

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
УО “ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ”

В.В. ЗОРИНА, В.Я. БЕКИШ

**ГЕНОТОКСИЧЕСКИЕ, ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ И
ЭМБРИОТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ИНВАЗИЙ
ГЕЛЬМИНТАМИ**

Витебск, 2017

УДК 616-002.951:[575+576.3+57.089.3] (07)

ББК 55.177

Б 3-86

Рецензенты:

Потенко В.В., профессор, доктор биологических наук, заведующий кафедрой
медицинской биологии и общей генетики

УО «Гомельский государственный медицинский университет»

Мяделец О.Д., профессор, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой гистологии,
цитологии и эмбриологии

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Утверждено на заседании научно-технического совета УО «ВГМУ» № 4 от
2.05. 2017г.

Зорина В.В.

Б 42 Генотоксические, цитотоксические и эмбриотоксические эффекты
инвазий гельминтами : монография / В.В. Зорина, В.Я. Бекиш. –
Витебск: ВГМУ, 2017. – 222 с.

ISBN 978-985-466-890-1

В монографии представлены результаты собственных исследований авторов и данные литературы, посвященные характеристике генотоксического, цитотоксического и эмбриотоксического воздействий гельминтов на организм хозяина. Охарактеризовано распространение наиболее встречаемых гельминтов в отдельных регионах Республики Беларусь. Изложены современные представления о формировании хромосомных и геномных мутаций в клетках млекопитающих и человека при гельминтозах. Приведены собственные исследования на клетках хозяина при гельминтозах при применении щелочного гель-электрофореза изолированных клеток (метод “ДНК-комет”). Дана характеристика первичных повреждений ДНК и апоптоз различных типов клеток хозяина при воздействии инвазий гельминтами. Описано воздействие паразитов и продуктов их жизнедеятельности на организм хозяина до и после наступления беременности. Охарактеризованы пути снижения генотоксических, цитотоксических и эмбриотоксических эффектов инвазий гельминтами

Монография предназначена для паразитологов, генетиков, инфекционистов, педиатров, терапевтов, научных сотрудников и студентов медицинских, биологических и ветеринарных учреждений образования.

Табл. 8. Рис. 75. Библиогр. – 305 назв.

УДК 616-002.951:[575+576.3+57.089.3] (07)

ББК 3-86

© Зорина В.В., Бекиш В.Я, 2017

© УО «Витебский государственный медицинский университет», 2017

ISBN 978-985-466-890-1

ОГЛАВЛЕНИЕ

<i>Список условных сокращений</i>	5
Введение	6
 ГЛАВА 1. Распространение наиболее встречаемых гельминтов в отдельных регионах Республики Беларусь	11
1.1. Встречаемость цестод у их окончательных и промежуточных хозяев.....	11
1.2. Распространение наиболее встречаемых трематод и нематод у их окончательных и промежуточных хозяев.....	20
 ГЛАВА 2. Формирование хромосомных и геномных мутаций в клетках млекопитающих при гельминтозах	34
2.1. Кластогенные и анеугенные изменения в клетках хозяина во время инвазий гельминтами и при воздействии соматических белковых продуктов из их тканей	35
2.2. Способы защиты наследственного аппарата соматических и генеративных клеток хозяина от кластогенного и анеугенного воздействий инвазий гельминтами.....	42
 ГЛАВА 3. Первичные повреждения ядерной ДНК и апоптоз различных типов клеток хозяина при воздействии инвазий гельминтами	49
3.1. Применение метода “ДНК-комет” для оценки цитогенетической нестабильности при воздействии факторов среды.....	49
3.2. Генотоксические и цитотоксические воздействия паразитических плоских и круглых червей на соматические и генеративные клетки млекопитающих различных семейств.....	56
3.2.1. Трематоды.....	56
3.2.2. Цестоды.....	66
3.2.3 Нематоды.....	72
 ГЛАВА 4. Воздействие паразитов и продуктов их жизнедеятельности на организм хозяина до и после наступления беременности	97
4.1. Влияние паразитов на протекание и исход беременности хозяина	97
4.2. Генотоксические и цитотоксические эффекты инвазий гельминта-	

ми в соматических клетках и клетках эмбрионов млекопитающих при заражении до и после наступления беременности.....	97
4.3. Влияние сенсibilизации белковыми соматическими продуктами из тканей гельминтов на генотоксические и цитотоксические изменения в соматических, генеративных, эмбриональных клетках хозяина.....	105
4.4. Эмбриотоксический эффект инвазий гельминтами и введения продуктов их жизнедеятельности.....	119
ГЛАВА 5. Пути снижения генотоксических, цитотоксических и эмбриотоксических эффектов инвазий гельминтами.....	127
5.1. Репарации ядерной ДНК, редукция апоптоза соматических и эмбриональных клеток, пред- и постимплантационную гибель зародышей у инвазированных до и после наступления беременности мышевидных грызунов при использовании комбинированной терапии гельминтозов.....	127
5.2. Повышение уровней репарации ядерной ДНК, редукции апоптоза клеток млекопитающих различных семейств при дегельминтизации хозяина совместно с применением нестероидных противовоспалительных препаратов и витаминов с антиоксидантным характером действия.....	150
Заключение.....	184
Литература.....	191

Список условных сокращений

БСП – белковый соматический продукт

БСЭСП – белковый секреторно-экскреторно-соматический продукт

ДК – диеновые конъюгаты

ИФА – иммуноферментный анализ

МДА – малоновый диальдегид

МЯ – микроядро

НХЭ – нормохроматофильный эритроцит

ПХЭ – полихроматофильный эритроцит

ППЯ ДНК – первичные повреждения ядерной дезоксирибонуклеиновой кислоты

СОД – супероксиддисмутаза

ХА – хромосомная абберрация

Посвящается светлой памяти наших отцов:
Владимира Максимовича Зорина;
Освальд-Яна Леоновича Бекиша.

ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), гео- и биогельминты представляют глобальную проблему для всего человечества, в связи с этим в 2015-2020 гг. на борьбу с ними планируется потратить более 870 миллионов долларов [232]. Ежегодно диагностируется 720 миллионов клинических случаев гельминтозов, в том числе 135 тысяч со смертельным исходом. Геогельминтозами каждый год заражаются более 1,5 миллиардов человек, среди которых наиболее распространенными считаются тениозы, дифиллоботриоз, трихоцефалез и др. [217, 225]. По мнению экспертов ВОЗ, среди 50 миллионов пациентов с эпилепсией у 30 % она вызвана нейроцистицеркозом в эндемичных странах и у 3 % по всему миру [232]. Осложнения гельминтозов могут быть причиной возрастания перинатальной смертности и заболеваемости во всем мире, поражая ежегодно во время беременности более 44 миллионов женщин [200]. Антигельминтики обладают эмбриотоксическим, фетотоксическим, мутагенным и тератогенным воздействиями [161].

В Республике Беларусь не проводился независимый анализ эпидемиологической ситуации цестодозных заболеваний. Только в 1960–1966 гг. И.П. Антоновым было проведено изучение клиники, диагностики и лечения цистицеркоза [68].

Известно, что вторичные повреждения в наследственном аппарате соматических клеток хозяина (образование анеуплоидных клеток, клеток с микроядрами и хромосомными абберациями) вызывают метаболиты описторхисов, шистосом, власоглавок, трихинелл, аскарид, токсокар [34]. Изменения в генетическом аппарате генеративных клетках при паразитарных инвазиях остаются пока малоизученными. На данный момент доказаны факты роста первичных повреждений ДНК и апоптоза соматических, генеративных клеток только при трех инвазиях – гименолепидоз, токсокароз, трихинеллез [34].

Нами в 2010 г. была выдвинута гипотеза, что метаболиты гельминтов могут вызывать не только нарушения в генетическом аппарате соматических и генеративных клеток хозяина, их апоптоз, но послужить причиной нарушений и в его эмбриональных клетках, быть потенциальными генотоксическими и цитотоксическими повреждающими факторами эмбриональных клеток млекопитающих. Изучение первичных повреждений ядерной (ППЯ) ДНК, апоптоза клеток и эмбриотоксических эффектов инвазий даст возможность раскрыть причины возникновения опухолей, аномалии развития плодов, уродств у млекопитающих и предложить способы их профилактики [7]. Были изучены ППЯ ДНК и апоптоз соматических, генеративных и эмбриональных клеток хозяина только при аскаридозе [31, 61], трихинеллезе [103, 113] и описторхозе [91, 92].

На XI Международном конгрессе по паразитологии (Шотландия, 2006) четко акцентировалось внимание на необходимости изучения взаимоотношений паразита и хозяина при беременности и роли молекулярно-генетических аспектов в развитии паразитарных заболеваний.

Ведущим механизмом кластогенного и анеугенного воздействий гельминтов на геном хозяина считается развитие окислительного стресса в его клетках, который развивается в результате взаимодействий в системе паразит-хозяин [34]. В случае малой эффективности трансплацентарного барьера можно предположить развитие окислительного стресса в клетках эмбрионов млекопитающих и человека.

На сегодняшний день для дегельминтизации млекопитающих применяются фенасал, празиквантел, мебендазол, альбендазол, ивермектин, левамезол. Антигельминтные препараты обладают мутагенным воздействием и не всегда обеспечивают полное выздоровление хозяина паразита даже при повторных курсах лечения. Важность эффективности дегельминтизации при гельминтозах определяется присуждением в 2015 г. Нобелевской премии в области медицины ирландцу Уильяму Кэмбелл и японцу Сатоси Омура за открытия в области борьбы с паразитами. Им удалось открыть новый класс лекарств на основе авермектинов, что помогло в лечении заболеваний, вызываемых паразитическими червями.

Метод “ДНК-комет” или гель-электрофорез изолированных клеток является универсальным, чувствительным методом для измерения одно- и двухцепочечных разрывов ДНК [160]. Последние 10 лет метод широко используется в странах Евросоюза для выявления биомаркеров анализа в исследованиях человеческой популяции – в первую очередь для измерения повреждений ДНК и оценки способности клеток для репарации ДНК. Вопросы репарации ДНК актуальны на современном этапе развития науки, в связи с этим в 2015 г. Нобелевскую премию по химии получили ученые Томас Линдель, Пол Мондрих и Азиз Санкар за исследования процессов восстановления (репарации) поврежденной ДНК.

Установление гено-, цито- и эмбриотоксических воздействий инвазий гельминтами на клетки млекопитающих даст возможность раскрыть новые аспекты взаимоотношений в системе паразит-хозяин на молекулярно-генетическом уровне, выявить причины возникновения мутаций генов, нарушений развития в эмбриогенезе, уродств и предложить эффективные методы репарации ядерной ДНК, редукции апоптоза у млекопитающих.

Целью монографии было отразить результаты собственных исследований и современные данные литературы, характеризующие закономерности развития ППЯ ДНК, индукции апоптоза, эмбриотоксического эффекта при гельминтозах млекопитающих мышевидных, хомяковых грызунов, гоминид в зависимости от времени начала инвазии, ее интенсивности, а также разработки комбинированных способов улучшения репарации ДНК, редукции апоптоза клеток хозяина при их паразитировании.

Задачами монографии было отразить результаты собственных исследований и современные данные литературы, характеризующие следующие аспекты:

- закономерности поражения окончательных и промежуточных хозяев наиболее встречаемых цестод, трематод и нематод в отдельных регионах Республики Беларусь;
- характеристика кластогенного и анеугенного воздействия метаболитов гельминтов до и после комбинированного лечения;
- исследования ППЯ ДНК и апоптоза различных типов клеток (соматические, генеративные) млекопитающих семейств мышевидных и хомяковых грызунов, гоминид, зараженных цестодами

(*Taenia solium*, *Taeniarhynchus saginatus*, *Diphyllobothrium latum*), нематодой (*Trichocephalus trichiurus*) в зависимости от интенсивности и сроков развития инвазии;

– установление ППЯ ДНК и возникновение апоптоза соматических клеток костного мозга беременных самок млекопитающих семейств мышевидных и хомяковых грызунов и клетках их эмбрионов в зависимости от дозы заражения инвазионным материалом до наступления беременности, определить эмбриотоксический эффект тениидозных, дифиллоботриозной, токсокарозной, трихоцефалезной инвазий;

– изучение влияния сенсibilизации белковыми соматическими продуктами (БСП) из тканей тениид, широкого лентеца, власоглава на генотоксические и цитотоксические изменения в соматических, генеративных клетках хозяина, а также определить эффект введения БСП из тканей этих цестод, нематод на уровне ППЯ ДНК и возникновение апоптоза клеток костного мозга и эмбрионов самок мышевидных грызунов при беременности, уровне пред- и постимплантационной гибели зародышей;

– определение уровней репарации ядерной ДНК, редукции апоптоза соматических и эмбриональных клеток, пред- и постимплантационную гибель зародышей у инвазированных до наступления беременности самок золотистых хомяков и мышей при использовании комбинированной специфической, патогенетической и антиоксидантной терапии экспериментальных тениидозов, дифиллоботриоза, висцерального токсокароза, трихоцефалеза.

– изучение уровней репарации ядерной ДНК, редукции апоптоза соматических и генеративных клеток млекопитающих семейств мышевидных, хомяковых грызунов, гоминид при дегельминтизации хозяина (мебендазол, альбендазол, празиквантел) совместно с применением нестероидных противовоспалительных препаратов (ибупрофен, индометацин) и витаминов с антиоксидантным характером действия (С, Е, β -каротин с Se) у инвазированных цестодами (*T. solium*, *T. saginatus*, *D. latum*, *Hymenolepis nana*), нематодой (*T. trichiurus*) с использованием метода “ДНК-комет”.

Исследования, отраженные в монографии, выполнялись в 2006-2016 гг. в рамках одной научно-исследовательской работы УО “Ви-

тебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет”, трех тем заданий ГНТП и одной темы БФФИ:

– “Секреторно-экскреторно-соматические продукты гельминтов как потенциальные мутагены и тератогены в системе паразит-хозяин” (Гос. рег. № 20072808);

– “Изучить эпидемиологическую ситуацию по цестодозам в отдельных регионах Беларуси, предложить способы их профилактики и лечения” (тема-задание 03.13/09, Гос. рег. № 20091463;

– “Изучить на основе ДНК - технологий особенности патогенеза и разработать оценку эффективности лечения нематодозов человека” (тема-задание 03.05, Гос. рег. № 20063570);

– “Изучить на основе нанотехнологий особенности патогенеза и разработать эффективные способы лечения и диагностики трихинеллеза, описторхоза и трихоцефалеза человека” (тема-задание 03.01/11, Гос. рег. № 20114734);

– “Влияние экспериментального висцерального токсокароза и миграционного аскаридоза на гепатобиллиарную систему” (договор с ФФИ № Б09М-149).

Авторы монографии приносят благодарность сотрудникам кафедр инфекционных болезней УО “Витебский государственный медицинский университет”, УО “Гродненский государственный медицинский университет”, УО “Гомельский государственный медицинский университет”, зональных, городских, областных центров гигиены и эпидемиологии за помощь в проведенных исследованиях.

ГЛАВА 1

РАСПРОСТРАНЕНИЕ НАИБОЛЕЕ ВСТРЕЧАЕМЫХ ГЕЛЬМИНТОВ В ОТДЕЛЬНЫХ РЕГИОНАХ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

1.1. Встречаемость цестод у их окончательных и промежуточных хозяев.

Цестоды – гельминты, которых относятся к типу Плоские черви (Plathelminthes), классу Ленточные черви (Cestoidea). Представители двух отрядов Цепни (Cyclophyllidea) и Лентецы (Pseudophyllidea) паразитируют в организме млекопитающих и человека. Отряд Cyclophyllidea представлен цестодами, имеющими медицинское значение: карликовый (*H. nana*), крысиный (*Hymenolepis diminuta*), бычий (*T. saginatus*), свиной (*T. solium*) и тыквовидный (*Dipylidium caninum*) цепни, эхинококк (*Echinococcus granulosus*), альвеококк (*Alveococcus multilocularis*) и личинки *Multiceps multiceps*, паразитирующие у человека только на личиночной стадии. Они способны вызывать у человека такие заболевания, как гименолепидоз, тениаринхоз, тениоз, цистицеркоз, эхинококкоз, альвеококкоз, ценуроз. Из отряда Pseudophyllidea у человека паразитируют лентец широкий (*D. latum*), способный вызывать дифиллоботриоз, а на личиночной стадии – *Spirometra erinacei europaei*, возбудитель спарганоза.

В республике нет руководств по эпидемиологии, клинике, диагностике, лечению и профилактике паразитарных заболеваний человека и, в частности, по цестодозам. В России этой проблеме уделяется должное внимание. По поручению ВОЗ было переведено и издано международное руководство по лабораторной диагностике паразитарных заболеваний. Под эгидой ВОЗ издано фундаментальное руководство “Клиническая паразитология”, а также руководство “Паразитарные болезни человека” [75, 104]. В Беларуси в шестидесятых годах прошлого века было проведено изучение клиники, диагностики и лечения цистицеркоза головного мозга человека – тяжелейшего осложнения тениоза, а в девяностых годах было изучено распространение цестодозов картографическим методом [2, 149].

В связи с вышеизложенным, в 2006-2012 гг. нами было изучена эпидемиологическая ситуацию по гименолепидозу, тениидозам, дифиллоботриозу в Республике Беларусь [37, 45, 48].

Эпидемиология цестодозов изучалась на основании метода опроса и гельминтологических обследований мужского и женского населения разных профессий и возраста. Сбор данных по пораженности населения цестодами проводили в г. Витебске и Витебской области. Пораженность крупного рогатого скота и свиней цистицерками бычьего и свиного солитеров учитывали на мясокомбинатах республики, в областных ветеринарных лабораториях и в ГУ “Белорусский государственный ветеринарный центр”. Сбор данных по пораженности промежуточных (рачки циклопы) и дополнительных (щука, окунь, ёрш) хозяев лентеца широкого в реках Неман, Западная Двина, Днепр и Припять проводили во время экспедиционных выездов. Считается, что ведущую роль в заражаемости людей дифиллоботриозом имеет щука, накапливающая плероцеркоиды паразита (до 100 экз. и более), которые могут длительное время сохраняться [5].

Изучали особенности распространения гименолепидоза у жителей г. Витебска и Витебской области. Учитывалась также выживаемость инвазионных яиц карликового цепня на объектах внешней среды. Исследовали особенности эпидемиологии тениидозов в Беларуси, для чего были обследованы работники молочно-товарных ферм, животноводческих комплексов, мясокомбинатов, пищеблоков, столовых, продовольственных магазинов, дети дошкольных учреждений, школьники общеобразовательных учреждений, учащиеся профессиональных технических училищ, студенты. Применялись методы опроса, копрологические методы по Гейну и Като. Учитывали пораженность крупного рогатого скота, свиней цистицерками тениид в Витебской, Гомельской, Гродненской и Могилевской областях и в республике в целом. Проводили обследования каждого очага финноза крупного рогатого скота для выявления источника инвазии. Изучали влияние факторов окружающей среды на выживаемость яиц и цистицерков *T. saginatus* и *T. solium*. Жизнеспособность яиц определяли методом люминесцентной микроскопии. Дифференциация яиц бычьего и свиного солитеров выявлялась дополнительной окраской по Циль-

Нильсену. Изучали эпидемиологию дифиллоботриоза на основании гельминтологических обследований мужского и женского населения разных профессий и возраста в г. Витебске и районах области, а так же учитывались отчётные данные республиканской и областных центров гигиены, эпидемиологии и охраны здоровья. Исследования по изучению пораженности промежуточных и дополнительных хозяев личиночными стадиями лентеца широкого проводились во время экспедиционных выездов на реки Неман, Днепр, Западная Двина Республики Беларусь. Материал забирали специальным сачком, вылавливая циклопов у берегов рек. Последних помещали в чашки Петри и с помощью бинокулярного микроскопа МБС-10 подсчитывали количество рачков и среди них процент инвазированных процеркоидами. Пойманную рыбу вскрывали и исследовали ее визуально, а так же компрессорным методом с помощью микроскопа на наличие плероцеркоидов. Учитывали индекс обилия (количество паразитов на одного дополнительного хозяина). Достоверность выявляемых различий определяли по t-критерию Стьюдента. Полученные результаты считались достоверными при $P < 0,01-0,05$.

При исследовании выживаемости яиц карликового цепня на различных объектах окружающей среды установлено, что они могут выживать на последних и сохранять способность поражать хозяина. Учитывались только яйца с цельными оболочками, у которых медианная пара эмбриональных крючьев либо была параллельна латеральным, либо латеральные пары образовывали с медиальной угол у основания менее 45° . Установлено, что карликовый цепень поражает преимущественно городское население. Это обусловлено более высокой плотностью населения в городах, наличием большого числа детских учреждений, многонаселенных квартир, домов без канализации и водопровода. Пораженность населения г. Витебска и Витебской области гименолепидозом составила 0,043 % (Рис. 1.1). Из 37637 обследованных жителей г. Витебска и Витебской области выявлено 16 пациентов с гименолепидозом (12 в г. Витебске и 4 в Витебской области).

Яйца тениид обладают высокой устойчивостью к внешним неблагоприятным факторам. При $+5^{\circ}\text{C}$ жизнеспособность яиц может сохраняться до 60 дней. При $+30^{\circ}\text{C}$ яйца живут 3-4 дня. При

температуре выше $+30^{\circ}\text{C}$ быстро проявляется процесс старения и гибели яиц, хотя некоторые недоразвившиеся яйца могут достичь инвазионной стадии. При -5°C до 70 % яиц остаются жизнеспособными, а при -30°C – только 47 % в течение 3 дней. Минусовые температуры не ускоряют процесса старения яиц, но развитие недоразвившихся яиц задерживается. Яйца тениид переносят холодную зиму лучше, чем жаркое лето. Они выживают дольше, когда находятся вне проглоттид. Эпидемиологическое значение имеет высокая устойчивость во внешней среде онкосфер вооруженного и невооруженного цепней. Низкая относительная влажность является доминирующим фактором, влияющим на выживаемость яиц тениид в естественных условиях. Повышенная влажность, наоборот, способствует выживанию яиц в течение одного года и более.

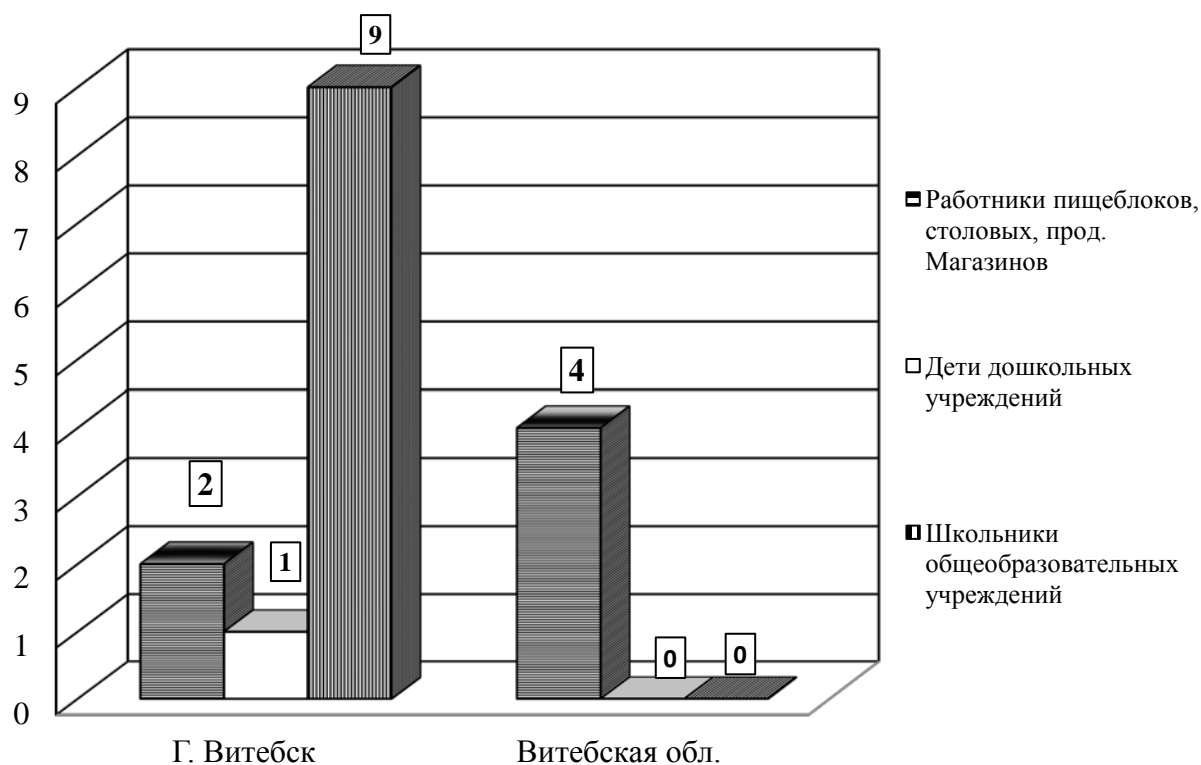


Рис. 1.1. Обследование населения г. Витебска и Витебской области на гименолепидоз.

Цистицерки через две-три недели после смерти хозяина погибают. При замораживании мяса до -10°C они разрушаются в течение 15 дней. Цистицерки весьма чувствительны к высоким температурам и быстро погибают при $+80^{\circ}\text{C}$.

Согласно официальным отчетным данным Республиканского центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, заболеваемость тениидами составляла в последние 10 лет от 0,04 до 0,15 на 100 тыс. населения, в том числе пациентов с тениаринхозом было от 0,05 до 0,10 и тениозом – от 0,03 до 0,07 на 100 тыс. населения.

Нами было обследовано 69715 лиц разных профессий на наличие у них цестод (Рис. 1.2). Суммарно выявлено 32 пациента с тениидами (0,045 %), в том числе 22 инвазированных лиц тениаринхозом, что составило 0,034 % от общего числа обследованных и 10 пациентов с тениозом (0,007 %). Среди пациентов с тениаринхозом 5 были работниками молочно-товарных ферм, 7 – работниками столовых, 7 – работниками животноводческих комплексов, 1 – школьник и 2 – студента вузов. Среди пациентов с тениозом 2 были работниками молочно-товарных ферм, 2 – работниками мясокомбината, 2 – работниками животноводческих комплексов, 2 – работниками столовых и продовольственных магазинов и 2 – студентами вузов, родители которых купили им финнозную свинину на Ждановичском рынке г. Минска.

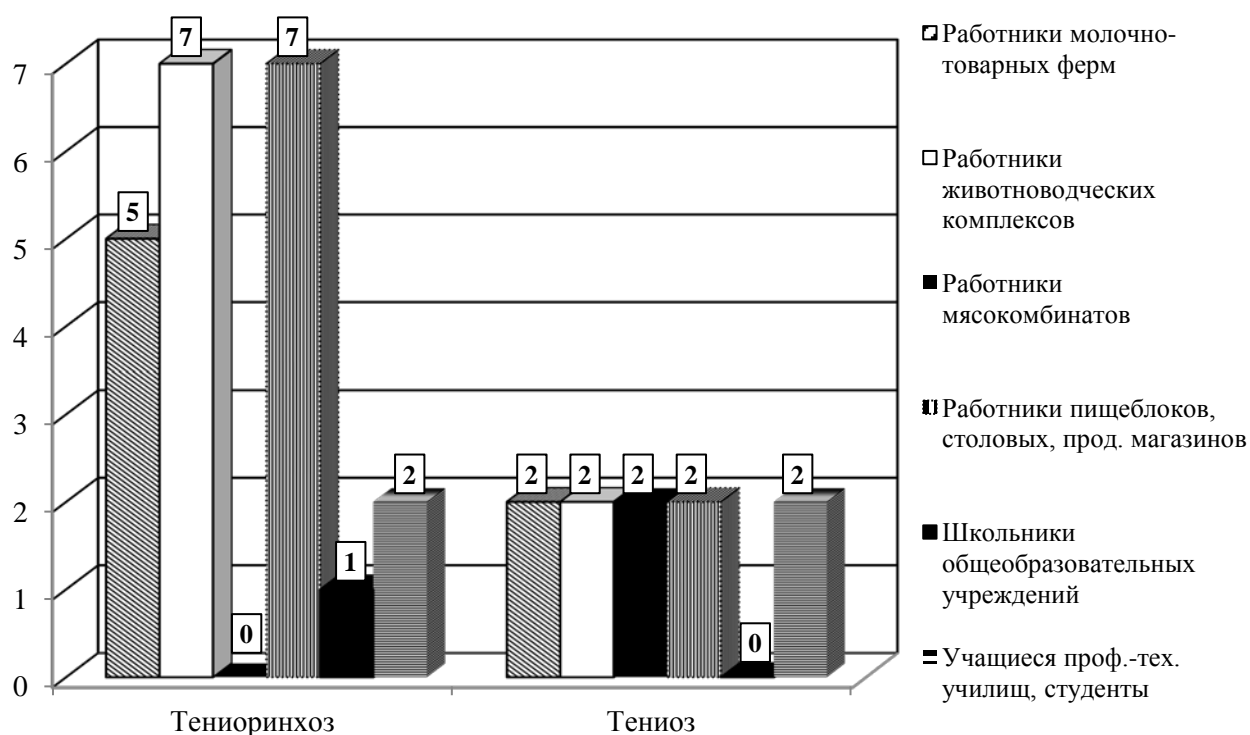


Рис. 1.2. Распределение пациентов с тениидами по профессиональному признаку.

По отчетным данным Республиканского центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, на мясокомбинатах, убойных пунктах и ветеринарных лабораториях, на рынках в 2001 г. было зарегистрировано только 2 свиные туши, пораженные финнозом, а пациентов с тениозом обнаружено 5 человек. В 2002 г. выявлено 138 туш свиней, пораженных финнозом, а пациентов с тениозом только 2 случая. В 2003 г. обнаружено 2 свиные туши, пораженные финнозом, в 2004 г. – 5, в 2005 г. – 13 туш. Однако в эти три года не был выявлен ни один пациент с тениозом. В 2006 г. финноза среди свиней не было отмечено.

При анализе полученных нами отчетных данных оказалось, что в 2001 г. 84 туши (0,0036 %) были поражены цистицерками бычьего цепня, в 2002 г. – 64 (0,0061 %), в 2003 г. – 82 (0,0089 %), в 2004 г. – 97 (0,0098 %), в 2005 г. – 93 туши (0,0095 %) и в 2006 г. – только 2 случая финноза крупного рогатого скота. При анализе пораженности крупного рогатого скота по отдельным регионам обращает на себя внимание факт, что в Могилевской области в 2003 г. было выявлено 49 и в 2004 г. – 56 туш крупного рогатого скота, пораженных финнозом, а в Минской в 2005 г. – 52 туши крупного рогатого скота, пораженного цистицеркозом. Однако ни в 2004, ни в 2005 гг. в этих областях не было выявлено ни одного пациента с тениаринхозом. Наличие пораженности свиней и крупного рогатого скота финнозом при отсутствии источника инвазии – больного человека можно объяснить фактом приемом на работу граждан зарубежных стран на короткий период (май-сентябрь), не имеющих медицинских книжек.

При изучении отчетных данных с мясокомбинатов и областных ветеринарных лабораторий Витебской и Гомельской областей с января 2006 г. по май 2007 г. было установлено 36 случаев финноза крупного рогатого скота. Пораженность крупного рогатого скота в Витебской области при обследовании 68420 туш составила 0,015 % и в Гомельской (70867 туш) – 0,037 %. А средний показатель по республике составил 0,026 %. Из этих фактов следует, что отчетные данные Республиканского центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья и Белорусского Государственного Ветеринарного Центра не отражают истинного заражения животных финнозом.

При изучении распространенности дифиллоботриоза среди населения Витебской области нами были обследованы работники рыбоперерабатывающих предприятий, пищеблоков, столовых, продовольственных магазинов, молочно-товарных ферм, животноводческих комплексов, мясокомбинатов, дети дошкольных и школьники общеобразовательных учреждений, учащиеся профтехучилищ, студенты. В течение 2006 – 2008 гг. было обследовано 75840 человек на наличие дифиллоботриоза. Выявлено 27 пациентов, среди них мужчин 13, женщин – 14. Инвазированные распределились: 10 человек в возрасте 19 – 30 лет, 6 – в возрасте 40 – 50 лет и 11 были в возрасте 51 – 65 лет. По профессии было: рабочих – 5, с высшим образованием – 10 человек, студентов – 4, домохозяек – 2 человека и пенсионеров – 4 человека. Из этих данных можно сделать вывод об отсутствии связи между полом, возрастом, образованием, профессией и инвазированностью широким лентецом. Пораженность населения дифиллоботриозом колебалась от 0,07 до 0,14 на 100 тыс. населения в 2001–2007 гг., которая совпадает с данными Республиканского центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья.

Изучение пораженности промежуточных и дополнительных хозяев лентеца широкого проводили во время экспедиционных выездов в реках Неман (деревни Морино, Кривичи, Николаево Ивьевского района Гродненской области), Западная Двина (города Полоцк, Новополоцк, д. Мильковичи Бешенковичского и д. Язвино Витебского районов), Сож (города Гомель, Ветка), Припять (д. Лужевичи Мозырского района Гомельской области) и Днепр (г. Дубровно Витебской области).

В реке Неман пораженность циклопов составляла от 0,15 % до 0,27 %. В обследованных населенных пунктах была изучена пораженность промежуточных хозяев в зависимости от места забора материала (на один километр выше населенного пункта, в деревне и на один километр ниже). Пораженность циклопов, собранных на один километр выше населенного пункта, колебалась от 0,14 до 0,15 %, при заборе материалов в населенном пункте – от 0,25 до 0,32 % и при заборе ниже на один километр расположения населенного пункта – от 0,14 % до 0,16 % при средней величине пораженности 0,19 %. При изучении инвазированности дополнительных хозяев оказалось, что

щуки были поражены в среднем 4,41 %. При заборе материала на 1 км выше населённого пункта в районе д. Морино пораженность щук составила 4,76 % в д. Кривичи – 4,34 % и в д. Николаево – 4,16 %. Средний показатель инвазированности окуней в районе расположения деревней составил 3,66 %. Самый высокий показатель инвазированности окуней оказался в д. Николаево (3,84 %) и чуть ниже - в деревнях Морино и Кривичи (3,57 %). Инвазированность ершей в среднем составила для трёх деревней 3,61 %. Её разброс колебался от 3,70 % в д. Морино до 3,57 % в деревнях Кривичи и Николаево.

В реке Западная Двина инвазированность промежуточных хозяев (циклопов) в районе городов Полоцк, Новополоцк составила 0,16 %, а в деревнях Мильковичи – 0,16 % и Язвино – 0,17 %. Пораженность дополнительного хозяина (щука) в г. Полоцке достигала 3,70 % в г. Новополоцке – 4,0 %, в д. Мильковичи – 3,33 % и в д. Язвино – 2,85 %, а средний показатель составил 3,42 %. Инвазированность окуней оказалась самой низкой в деревнях Мильковичи и Язвино (3,12 %), в г. Полоцке – 3,45 % и в г. Новополоцке – 3,57 % при средней пораженности – 3,30 %. Пораженность ершей оказалась самой низкой (2,85 %) в д. Язвино, чуть выше в г. Полоцке (2,94 %) и г. Новополоцке (3,12 %). Самый высокий показатель инвазированность ершей (3,33 %) отмечен был в д. Мильковичи.

Были обследованы промежуточные и дополнительные хозяева в реке Днепр (г. Дубровно) и её притоков – Сож (города Ветка, Гомель) и Припять (д. Лужевичи Мозырского р-на). Оказалось, что циклопы инвазированы процеркоидами в г. Дубровно и г. Гомеле в 0,25 %, в д. Лужевичи – в 0,24 % и в г. Ветка – в 0,17 %. Щуки как дополнительные хозяева были поражены плероцеркоидами от 5,26 % до 5,71 %, окуни – от 5,0 % до 5,55 % и ерши – от 4,34 % до 4,41 %.

Наши данные совпадают с результатами наблюдений других авторов [73], которые подтверждают, что щуки как крупные хищные рыбы поражены более интенсивно, чем окуни и ерши. Этот факт можно объяснить тем, что крупные рыбы инвазированы значительно большим числом плероцеркоидов, чем молодые экземпляры, хотя первые уже не питаются планктоном, одним из элементов которого являются рачки. Абсолютное число плероцеркоидов у взрослых щук значительно больше, чем у молодых. У последних их значительно

больше на одну и ту же единицу веса, щука сильнее заражена плероцеркоидами лентеца широкого.

Щука, пораженная плероцеркоидами, чаще употребляется в пищу человеком и имеет ведущее эпидемиологическое значение. Интенсивная инвазия щук личинками *D. latum* объясняется способностью плероцеркоидов мигрировать из одной рыбы в другую и накапливаться в организме хищных рыб. Об этом свидетельствуют и данные по изучению индекса обилия паразитов в дополнительном хозяине. Оказалось, что этот показатель равнялся 0,07 в реке Западная Двина, в реке Неман – 0,09 и в бассейне реки Днепр – 0,11. Пораженность промежуточных хозяев (рачков *Cyclops* sp.) плероцеркоидами лентеца широкого в реках Беларуси колеблется от 0,16 до 0,25 %. Интенсивность инвазии дополнительных хозяев плероцеркоидами *D. latum* составляет у щук и окуней от 15,6 % до 22,2 %, а у ершей – от 6,25 % до 22,2 %. Максимальная пораженность как промежуточных, так и дополнительных хозяев личиночных стадий лентеца широкого отмечено в бассейне реки Днепр. В реках Беларуси имеются все предпосылки для формирования потенциальных очагов дифиллоботриозной инвазии.

Эпидемиологические наблюдения позволяют считать факторами передачи плероцеркоидов лентеца широкого за счет употребления в пищу слабосоленой, плохо провяленной рыбы, сырого рыбного фарша или слабосоленой щучьей икры. Последняя имеет важное эпидемиологическое значение в очагах дифиллоботриоза. На сегодняшний день важным фактором инвазии человека плероцеркоидами *D. latum* следует считать увеличение потребности в вяленой рыбе в связи с широкой рекламой пива.

Источником гименолепидоза является карликовый цепень, включая мышиную и крысиную популяцию. Основной путь заражения человека карликовым цепнем происходит через рот при заглатывании инвазионных яиц. Передача яиц карликового цепня может осуществляться путем непосредственного контакта между инвазированным (донор) и реципиентом, а также путем опосредованного контакта через различные предметы внешней среды, алиментарным, водным и аэрогенным путями. Гименолепидоз чаще встречается среди городского (0,043 %), чем сельского населения (0,011 %). Особенности эпидемиологии тениидозов

определяются температурным режимом, влажностью в момент пребывания яиц и онкосфер во внешней среде. Высокие температуры вызывают в значительно большем проценте случаев гибель инвазионных яиц и онкосфер свиного и бычьего солитеров, чем низкие, в результате чего выживаемость онкосфер оказывается выше после воздействия низкими температурами. На выживаемость онкосфер оказывает негативное влияние сохранение яиц в проглотиде при воздействии климатических факторов. Сезонные особенности осенне-зимнего периода оказывает больший эффект на выживаемость онкосфер, чем весенне-летнего. Пораженность крупного рогатого скота финнами *S. bovis* на основе отчетных данных мясокомбинатов и областных ветеринарных лабораторий составила 0,026 %. При обследовании разных групп населения с учетом профессии оказалось, что заболеваемость тениидозами составляет 0,045 %, в том числе тениаринхозом – 0,034 % и тениозом – 0,007 %. Дифиллоботриоз встречается среди населения республики с частотой от 0,07 до 0,14 случаев на 100 тыс. населения. Пораженность промежуточных хозяев (рачков *Cyclops* sp.) процеркоидами лентеца широкого в реках Беларуси колеблется от 0,16 до 0,25 %. Интенсивность инвазии плероцеркоидами широкого лентеца у щук и окуней составляет 15,6-22,2 %, а у ершей – 6,25 %-22,2 %. В бассейне реки Днепр наблюдается максимальная пораженность промежуточных и дополнительных хозяев лентеца широкого.

На основании проведенных исследований разработаны и утверждены Министерством здравоохранения инструкция по применению “Профилактика цестодозов человека” [125], которая используются в последние годы более чем в 60 медицинских учреждениях районного и областного уровней Витебской, Гродненской, Брестской, Гомельской, Могилевской и Минской областей.

1.2. Распространение наиболее встречаемых трематод и нематод у их окончательных и промежуточных хозяев.

Трихинеллез – биогельминтоз, зооноз, вызванный паразитированием нематод, в основном, вида *Trichinella spiralis* [105]. По данным ГУ “Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и

общественного здоровья” за последние 6 лет на эндемичной по трихинеллезу территории только одной Гродненской области отмечено 14 семейно-групповых вспышек трихинеллеза. В 77 % случаев наблюдалась легкая форма болезни, 65 – средняя, 9 – тяжелая с летальным исходом.

Описторхоз – биогельминтоз, зооноз, характеризующийся поражением гепатобилиарной системы и поджелудочной железы [76, 105]. Возбудителем заболевания является кошачий сосальщик (*Opisthorchis felineus*). Человек может заражаться при поедании свежей, свежемороженой, вяленой или недостаточно прожаренной рыбы. Описторхоз – широко распространенное заболевание среди населения Российской Федерации, Украины, Беларуси [74]. В Республике Беларусь существует два природных очага описторхоза в бассейнах рек Неман и Припять. По экспертным заключениям ВОЗ, общее число пациентов с описторхозом в мире составляет около 2 млн человек, причем на страны СНГ, и, главным образом, Россию, приходится более 30 % пациентов [267]. В Республике Беларусь пораженность населения кошачьим сосальщиком за последние 12 лет по данным Республиканского центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья находится в пределах от 23 до 52 случаев в год.

Трихоцефалез – геогельминтоз, антропоноз, характеризующийся длительным течением у человека до 10 лет [105]. Ежегодно в мире болеют трихоцефалезом более 1 миллиарда человек [267]. В Республике Беларусь, пораженность населения власоглавами за последние 20 лет по данным Республиканского центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья находилась в пределах от 114,18 до 26,86 случаев на 100 тыс. населения в год.

Аскаридоз – антропонозный геогельминтоз, для ранней (миграционной) фазы которого характерны аллергические проявления инвазии (эозинофильные инфильтраты в легких, крапивница и др.), а во второй (кишечной) – наличие диспепсических явлений с возможными тяжелыми осложнениями. Аскаридоз относится к инвазиям, имеющим важное значение для здравоохранения, поскольку паразит нарушает функцию желудочно-кишечного тракта и способен поглощать витамины антиоксидантного характера действия (С, Е, А). Человек может заражаться, заглатывая

инвазионные яйца через загрязненные руки, овощи, почву (геофагия). Человек является для паразита окончательным хозяином и источником инвазии.

По данным ГУ “Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья” заболеваемость аскаридозом с 1997 г. по 2015 г. находилась в пределах от 400,6 до 14,7 случаев на 100 тыс. населения.

В Республике Беларусь диагностика трихинеллеза, описторхоза и трихоцефалеза проводится на основе отечественных и российских учебников и учебных пособий, которые содержат весьма противоречивые или устаревшие данные о клинике, эпидемиологической характеристике, лабораторно-инструментальных методах, ИФА (иммуноферментный анализ) диагностике. Зачастую диагноз предполагается выставлять на основе только одного метода диагностики. На данный момент существует только одна инструкция “Паразитологические методы лабораторной диагностики гельминтозов и протозоозов” [106], которая содержит только описание самих методов диагностики без учета их диагностической значимости.

Вышеприведенные данные послужили основанием для изучения пораженности окончательных и промежуточных хозяев трематодами, нематодами и разработки комбинированного метода диагностики трихинеллеза, описторхоза и трихоцефалеза, включающего совместное применение клинических данных с методами копроовоскопии и ИФА.

На трихинеллез методом ИФА в 2009–2011 гг. были обследованы 1877 жителей Витебской, Гомельской и Гродненских областей (Табл. 1.1). Собранные у пациентов образцы сывороток крови изучались на наличие специфических антител IgG *T. spiralis* с применением ИФА. Для этого использовалась тест-система “Трихинелла-IgG-ИФА-БЕСТ” производства ЗАО “Вектор-Бест” (г. Новосибирск). Учёт результатов исследования производился визуально и с помощью калориметрического иммуноферментного анализатора. Диагностическим считался титр антител 1:800 и выше, а титры 1:100–1:400 считались как незначительный патологический процесс, соответствующий легкой степени трихинеллеза или проявление перекрестных реакций.

При серологическом обследовании пациентов Витебской областной клинической инфекционной больницы было установлено, что 1,65 % пациентов были больны трихинеллезом, что подтверждалось также клинически (Табл. 1.1).

Таблица 1.1

Результаты ИФА на трихинеллез учреждений здравоохранения Витебской (УЗ «ВОКИБ»), Гомельской (УЗ «ГОКИБ») и Гродненской (УЗ «ГрОКИБ») областных инфекционных больниц.

Обследуемые пациенты	К-во обслед. лиц ИФА	К-во лиц, давших положит. результат в разведении				
		1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600
УЗ «ВОКИБ»	363	-	-	-	4	2
Скрининговое обследование	404	-	-	3	4	3
УЗ «ГОКИБ»	217	1	-	-	1	-
Скрининговое обследование	6	1	1	-	-	-
УЗ «ГрОКИБ»	653	-	-	8	20	5
Скрининговое обследование	234	-	-	-	-	-
Всего	1877	2	1	11	29	10

При скрининговом обследовании 404 лиц в 0,74 % случаях выявлялся титр антител 1:400, в 1 % – 1:800 и в 0,74 % – 1: 1600. Только в 4 случаях (40 %) из 10 диагноз “трихинеллез средней тяжести” был подтвержден клинически.

При серологическом обследовании 217 пациентов Гомельской областной клинической инфекционной больницы было установлено, что в 0,46 % случаях выявлялся титр антител 1:100 и в 0,46 % – 1: 800 (Табл. 1.1). Диагноз трихинеллез не был выставлен ни в одном из 2 серологически выявленных случаях.

Среди 6 пациентов при скрининговом обследовании в 1 % случае был выявлен титр антител 1:100 и в 1 % – 1:200, в то время как клинически и копроовокопически у них был выставлен диагноз “трихинеллез средней тяжести”.

При серологическом обследовании пациентов Гродненской областной клинической инфекционной больницы было установлено, что 5,05 % пациентов были больны трихинеллезом легкой (8 пациентов – титр 1:400) и средней степенью тяжести (20 пациентов – 1:800, 5 пациентов – 1:1600), что подтверждалось также клинически (Табл. 1.1).

При скрининговом серологическом обследовании среди 234 пациентов трихинеллеза выявлено не было.

Суммарно из 1877 серологически обследованных лиц было выявлено 14 человек с легкой степенью трихинеллеза или проявлением перекрестных реакций (0,74 %) и 39 (4,5 %) пациентов оказались сероположительными по трихинеллезу. Наиболее часто определялись титры антител 1:400, 1:800, 1:1600 (54,7 %, 20,8 % и 18,9 соответственно), реже определялись титры антител 1:100 (3,8 %) и 1:200 (1,9 %). Среди 39 сероположительных пациентов (титр 1:800 и выше) 35 имели клинически подтвержденный диагноз “трихинеллез средней тяжести”.

На описторхоз копроовоскопически были обследованы 32778 и методом ИФА – 1523 жителя Витебской, Гомельской и Гродненских областей (Табл. 1.2). Собранные у пациентов образцы сывороток крови изучались на наличие специфических антител IgG *O. felineus* с применением иммуноферментного анализа. Для этого использовалась тест-система “Описторхис-IgG-ИФА-БЕСТ” производства ЗАО “Вектор-Бест” (г. Новосибирск). Учёт результатов исследования производился визуально и с помощью калориметрического иммуноферментного анализатора. Диагностическим считался титр антител 1:800 и выше, а титры 1:100-1:400 считались как незначительный патологический процесс, соответствующий хронической степени описторхоза или проявление перекрестных реакций.

У пациентов Витебской областной клинической инфекционной больницы копроовоскопически описторхоз выявлялся в 0,15 % случаев (Рис. 1.3). При серологическом обследовании 453 пациентов было установлено, что 2,20 % пациентов были больны описторхозом, что подтверждалось также копроовоскопически и клинически (Табл. 1.2). У 0,88 % пациентов выявлялся титр антител 1:400.

Таблица 1.2

Результаты овоскопии фекалий пациентов и ИФА на описторхоз учреждений здравоохранения Витебской (УЗ “ВОКИБ”), Гомельской (УЗ “ГОКИБ”) и Гродненской (УЗ “ГрОКИБ”) областных инфекционных больниц.

Обследуемые пациенты	КОПРООВОСКОПИЯ		ИФА			
	к-во обслед. лиц	к-во выявленных пациентов	к-во обслед. лиц	к-во лиц, давших положит. результат в разведении		
				1:100-200	1:400	1:800 и более
УЗ «ВОКИБ»	7763	12	453	-	4	10
Скрининговое обследование	64	4	361	-	-	1
УЗ «ГОКИБ»	10263	-	217	-	-	-
Скрининговое обследование	5140	33	6	3	2	-
УЗ «ГрОКИБ»	6986	3	231	-	-	-
Скрининговое обследование	2562	-	156	-	-	-
Всего	32778	52	1424	3	6	11

При копроовоскопическом скрининговом обследовании 64 лиц яйца кошачьих сосальщиков выявлялись в 6,25 % случаев, диагноз “описторхоз средней тяжести” был подтвержден клинически (Рис. 1.3). При ИФА обследовании 361 лиц в 0,27 % случаях выявлялся титр антител 1:800 и в этом одном случае диагноз “описторхоз средней тяжести” был подтвержден клинически.

При копроовоскопическом обследовании 10263 пациентов и серологическом обследовании 217 пациентов Гомельской областной клинической инфекционной больницы описторхоз выявлен не был (Рис. 1.3).

При скрининговом обследовании овоскопически в фекалиях 33 (0,64 %) лиц были найдены яйца кошачьего сосальщика (Рис. 1.3). У всех пациентов диагноз “описторхоз средней тяжести” был подтвержден клинически. Среди 6 пациентов в 50 % случае был выявлен титр антител 1:200 и в 33,3 % – 1:200. У всех 6 пациентов

клинически и копроовоскопически был выставлен диагноз “описторхоз средней тяжести”.

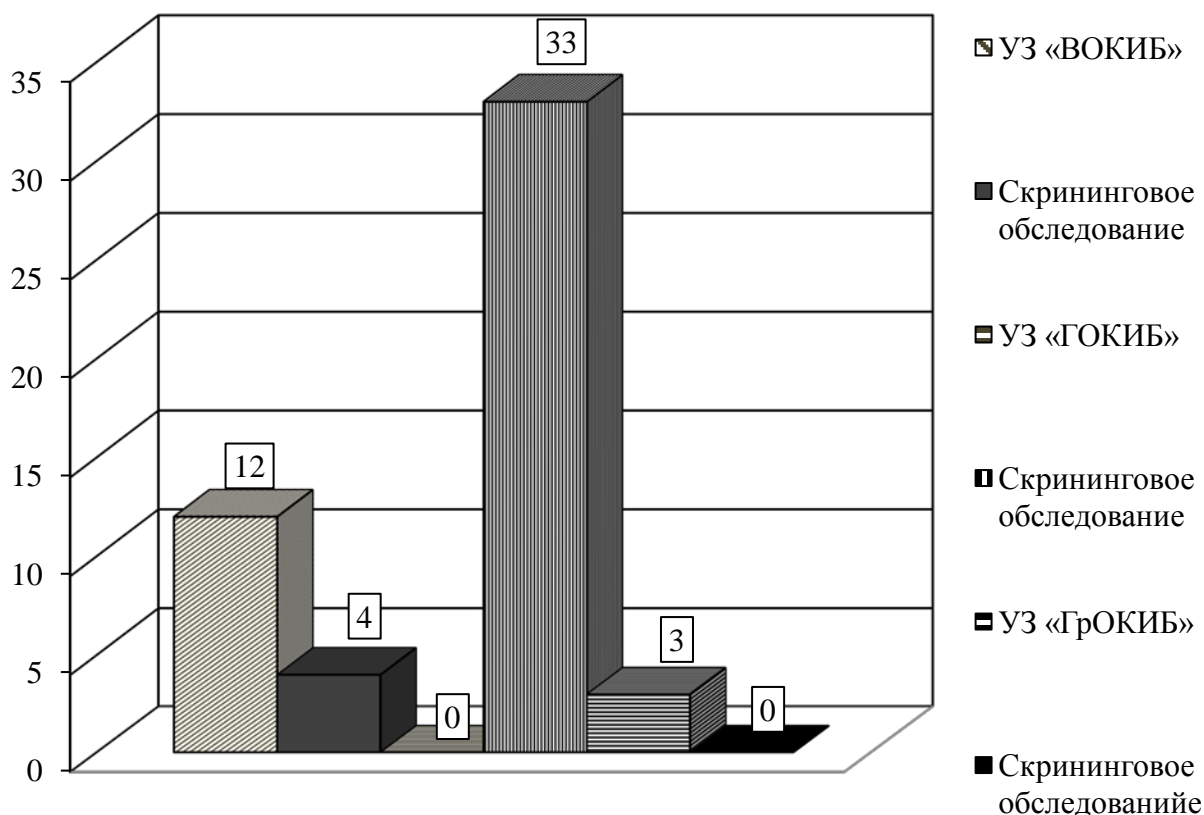


Рис. 1.3. Результаты овоскопии фекалий пациентов на описторхоз учреждений здравоохранения Витебской (УЗ “ВОКИБ”), Гомельской (УЗ “ГОКИБ”) и Гродненской (УЗ “ГрОКИБ”) областных инфекционных больниц за 2010-2011 гг.

У пациентов Гродненской областной клинической инфекционной больницы копроовоскопически описторхоз выявлялся в 0,04 % случаев (Рис. 1.3). При серологическом обследовании 231 пациента описторхоз выявлен не был.

При скрининговом копроовоскопическом и серологическом обследовании пациентов с описторхозом выявлено не было.

Суммарно из 32778 копроовоскопически обследованных лиц яйца кошачьего сосальщика были выявлены в 52 (0,16 %) случаев. У всех пациентов диагноз “описторхоз средней тяжести” был выставлен клинически.

Из 1424 серологически обследованных лиц было выявлено 9 человек с хроническим описторхозом или проявлением перекрестных

реакций (0,63 %) и 11 (0,77 %) пациентов оказались сероположительными по описторхозу. Наиболее часто определялись титры антител 1:800 и более (55 %), реже определялись титры антител 1:100, 1:200 (15 %) и 1:400 (30 %). Все 20 пациентов имели копроовоскопически и клинически подтвержденный диагноз “описторхоз средней тяжести”, но у 9 из них были низкие титры антител (титр 1:100 – 1:400).

В 2013 году дополнительно проведено исследование титров антител IgG к кошачьим сосальщикам методом ИФА для оценки его диагностической ценности при описторхозе. Было обследовано 20 пациентов с подтвержденным копроовоскопически и клинически диагнозом “описторхоз средней тяжести”.

У 8 пациентов антитела в титре 1:100 не выявлены (40 %), у 7 (35 %) – выявлены антитела в титре 1:100, у 1 (5 %) – 1:200, у 1 (5 %) – 1:800, у 2 (10 %) – 1:3200 и у 1 (5 %) – 1:6400. Таким образом, чувствительность метода ИФА по сравнению с копроовоскопией невысока: лишь у 60 % (95 % доверительный интервал 38,6–78,2 %) выявлены положительные титры антител, причем у 35 % пациентов титр антител был минимальным (1:100, начальное разведение тест-системы). Это свидетельствует о необходимости шире использовать овоскопию фекалий, методы обогащения для обнаружения яиц трематод.

С целью определения распространенности описторхозной инвазии среди населения Гомельской области в 2013 г. проведено исследование методом ИФА на определение антител IgG к описторхисам среди 79 пациентов гепатологического и диагностического отделений Гомельской областной инфекционной клинической больницы.

Из 79 пациентов, обследованных по клиническим и эпидемиологическим показаниям (хронические заболевания печени и желчевыводящих путей, эозинофилия неясной этиологии, употребление термически не обработанной речной рыбы в анамнезе) лишь у одного (1,3 %; 95 % ДИ 0 – 7,5 %) были выявлены антитела к описторхисам в титре 1:100. Пациент покинул стационар до готовности результатов теста и не был обследован методом копроовоскопии. Эффективность скрининга населения на описторхоз

методом ИФА довольно низка, и требует подтверждения иными методами.

На трихоцефалез копроовоскопически в 2008-2012 гг. были обследованы 55433 жителя г. Витебска, Витебской области в зависимости от места работы и получения образования, а также пациентов Гомельской областной клинической инфекционной больницы (Табл. 1.3, Рис. 1.4).

Таблица 1.3

**Результаты овоскопии фекалий пациентов на трихоцефалез
г. Витебска и Витебской области.**

Обследуемые работники	К-во обследованных лиц	К-во выявленных пациентов (% пораженности)
Молочно-товарных ферм, животноводческих комплексов, мясокомбинатов,	3806	3(0,08)
Пищеблоков, столовых, продовольственных магазинов	23086	74(0,32)
Дети дошкольных и закрытых учреждений	3773	7(0,19)
Сотрудники дошкольных и закрытых учреждений	4339	32(0,74)
Школьники общеобразовательных учреждений	4470	25(0,56)
Учащиеся профессиональных технических училищ	556	3(0,54)
Всего	40030	144(0,36)

Установлено, что у жителей г. Витебска и Витебской области в 2008-2012 гг. трихоцефалез встречался в 0,36 % случаев. Суммарно выявлено 144 пациента с трихоцефалезом. Наиболее поражены трихоцефалезом сотрудники дошкольных и закрытых учреждений, дети (0,74 %), школьники общеобразовательных учреждений (0,56 %), а также учащиеся профессиональных технических училищ (0,54 %).

На трихоцефалез копроовоскопически в 2011-2012 гг. были обследованы 15403 пациента Гомельской областной клинической инфекционной больницы.

Установлено, что у пациентов Гомельской областной клинической инфекционной больницы в 2010-2011 гг. трихоцефалез встречался в 0,03 % случаев. Суммарно выявлено только 4 пациента с трихоцефалезом.

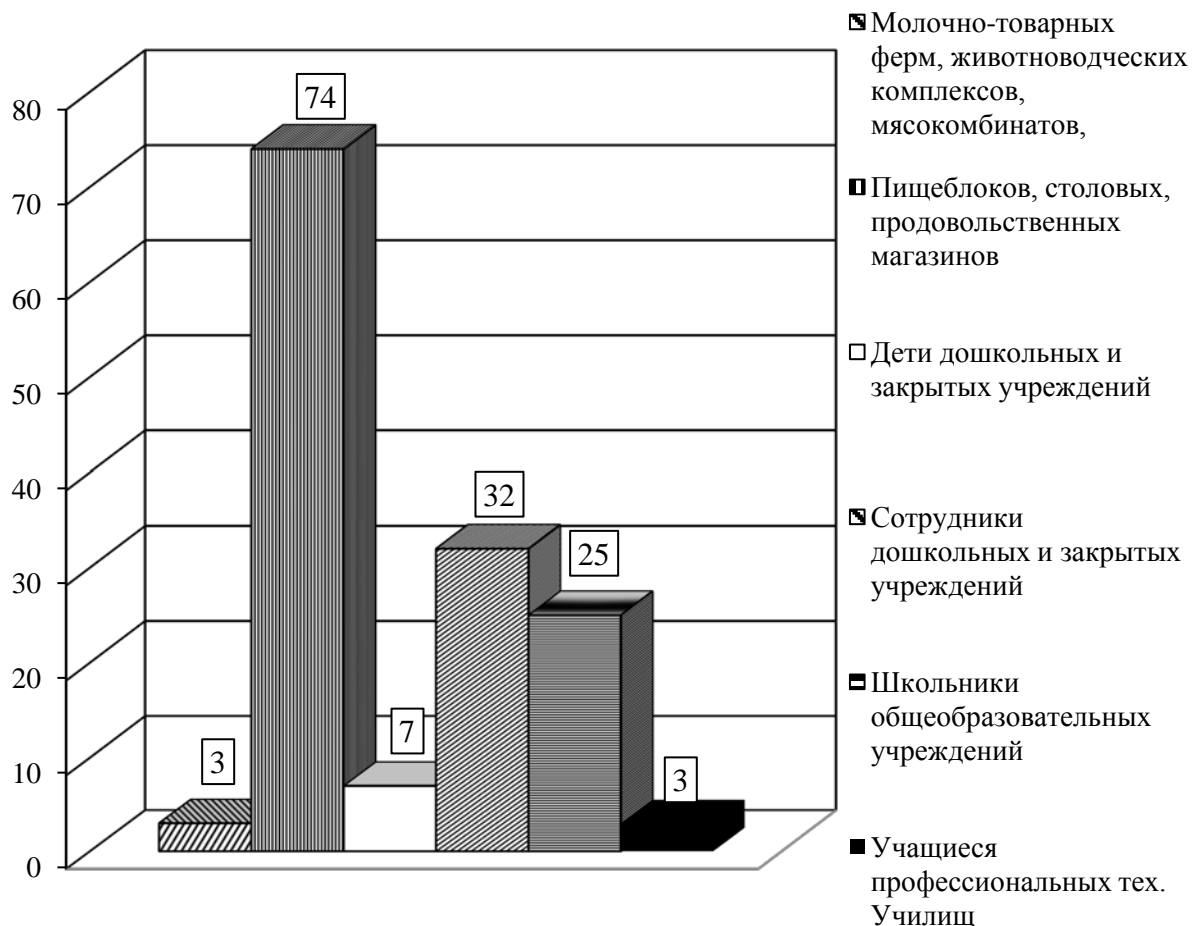


Рис. 1.4. Количество выявленных пациентов с трихоцефалезом в г. Витебске и Витебской области.

Среди 55433 жителей г. Витебска, Витебской области, а также пациентов Гомельской областной клинической инфекционной больницы в 2008-2012 гг. трихоцефалез встречался суммарно в 0,27 % случаев. Суммарно выявлено только 148 пациентов с трихоцефалезом.

На аскаридоз копроовоскопически в 2006-2010 гг. были обследованы 20581 жителя г. Витебска, Витебской области в зависимости от места работы и получения образования (Табл. 1.4).

Таблица 1.4

Пораженность аскаридозом жителей г. Витебска и Витебской области.

Обследуемые работники	К-во обследованных лиц	К-во выявленных пациентов (% пораженности)
Молочно-товарных ферм	367	10(2,72)
Животноводческих комплексов	46	1(2,17)
Мясокомбинатов, мясоконтрольных станций	553	16(2,89)
Пищеблоков, столовых, продовольственных магазинов	11462	187(1,63)
Дети дошкольных учреждений	1754	51(2,91)
Дети закрытых учреждений	745	27(3,62)
Сотрудники дошкольных и закрытых учреждений	2299	50(2,17)
Школьники общеобразовательных учреждений	3035	72(2,37)
Учащиеся профессиональных технических училищ	320	10(3,13)
Всего	20581	424(2,06)

Установлено, что у жителей г. Витебска и Витебской области в 2006-2010 гг. аскаридоз встречался в 2,06 % случаев (Рис. 1.5). Суммарно выявлено 424 пациента с аскаридозом. Наиболее поражены аскаридозом дети закрытых дошкольных учреждений (3,62 %), а также учащиеся профессиональных технических училищ (3,13 %).

Таким образом, при серологическом обследовании лиц трихинеллез легкой степени или перекрестные реакции наблюдаются в 0,74 % случаев и 4,5 % пациентов являются сероположительными по трихинеллезу. Среди сероположительных пациентов (титр 1:800 и выше) только 89,7 % имеют клинически подтвержденный диагноз “трихинеллез средней тяжести”. При копроовоскопическом обследовании лиц яйца кошачьего сосальщика выявляются в 0,16 % случаев. У всех пациентов диагноз “описторхоз средней тяжести” был выставлен клинически.

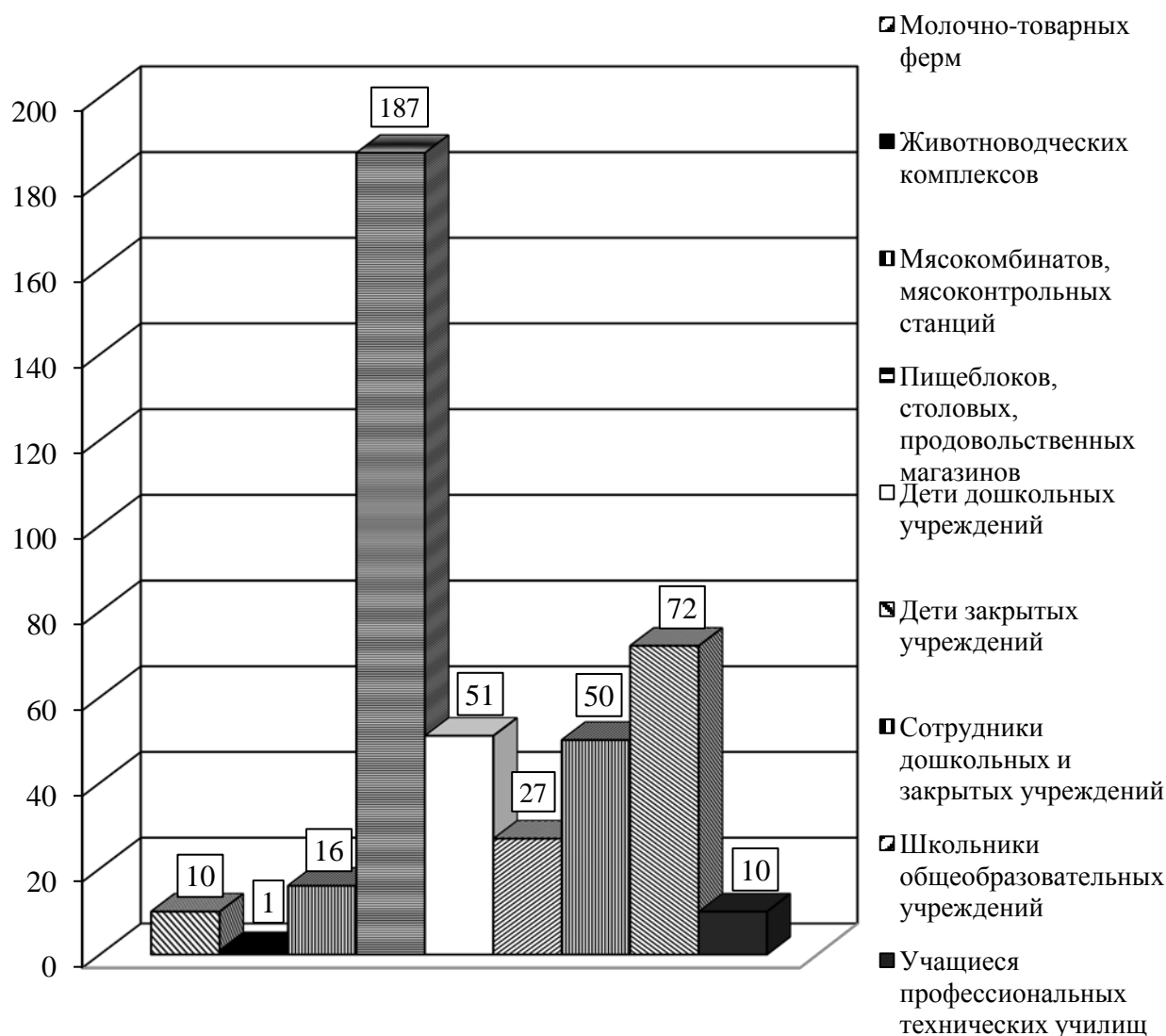


Рис. 1.5. Количество и качественный состав выявленных пациентов с аскаридозом в г. Витебске и Витебской области.

При серологическом обследовании лиц в 0,63 % выявляется хронический описторхоз или проявление перекрестных реакций и в 0,77 % случаев описторхоз. У пациентов с подтвержденным копроовоскопически и клинически диагнозом “описторхоз средней тяжести” титры антител 1:800 и более выявляются только в 57,5 % случаев. Чувствительность метода ИФА невысока, поэтому необходимо шире использовать копроовоскопию, методы обогащения для обнаружения яиц трематод. Серологическое обследование можно использовать в качестве скрининга инвазии, однако оно не может заменить копроовоскопическое обследование. Среди жителей г. Витебска, Витебской области, а также пациентов

Гомельской областной клинической инфекционной больницы в 2008-2012 гг. трихоцефалез встречался в 0,27 % случаев. Частота встречаемости трихоцефалеза, установленная нами, соответствует общереспубликанской за последние 10 лет, что показывает высокую значимость копроовоскопической диагностики заболевания.

Вышеприведенные данные послужили основанием для разработки комбинированного метода диагностики трихинеллеза, описторхоза и трихоцефалеза, включающего применение клинических данных вместе с методами копроовоскопии и иммуноферментным анализом. На основании исследований нами разработаны и утверждены Министерством здравоохранения инструкции на “Комбинированный метод диагностики трихинеллеза, описторхоза, трихоцефалеза” [33].

Предложенные инструкции на метод диагностики трихинеллеза, описторхоза, трихоцефалеза в 2014 году используются в 19 медицинских учреждениях районного и областного уровней Витебской, Гродненской, Брестской, Гомельской, Могилевской и Минской областей. Продиагностировано около 4893 пациентов на гельминтозы и выявлено 298 пациентов с трихинеллезом, описторхозом, трихоцефалезом. Эффективность выявления составила 6,09 %. Предлагаемый комбинированный метод диагностики позволяет повысить выявляемость пациентов с трихинеллезом, описторхозом и трихоцефалезом, определить стадию (описторхоз), степень тяжести (трихинеллез, трихоцефалез) заболевания, способствует правильной постановке диагноза и своевременному проведению лечения пациентов.

Оценка экономической эффективности разработанной инструкции по применению была проведена в соответствии с письмом первого заместителя Министра Здравоохранения Республики Беларусь Д.Л. Пиневича “О расчете экономической эффективности НИОКР (Т) Р” от 14.05.2014 г. № 08-13/253 и на основе рекомендуемых Минздравом для этого инструкций по применению “Методика расчетов эффективности медицинских технологий в здравоохранении” (Утв. МЗ РБ 31.12.2003 г., Рег. № 159-1203). Установлено, что комбинированное использование копрологических и ИФА диагностики трихинеллеза, описторхоза, трихоцефалеза человека с учетом их эффективности позволит

снизить затраты на диагностику инвазий у каждого пациента, улучшить выявляемость гельминтозов среди населения и предотвратить рост заболеваемости описторхозом, трихоцефалезом.

Снижение затрат на диагностику инвазий у каждого пациента на 1 рубль, а при среднем числе диагностик трихинеллеза, описторхоза, трихоцефалеза в 20 000 случаев в год экономия 20 000 в денонмированных рублях. Экономия за счет предотвращения формирования 1 случая описторхоза составила 30 рублей x 14 дней = 420 рублей на 1 случае. Экономия за счет предотвращения формирования 50 случаев описторхоза в год по Республике Беларусь: 21 000 рублей в год. Экономия за счет предотвращения формирования 1 случая трихоцефалеза: 15 рублей x 3 дней = 45 рублей на 1 случае. Экономия за счет предотвращения формирования 500 случаев трихоцефалеза в год по Республике Беларусь: 22 500 рублей в год. Экономия по Республике Беларусь за счет сокращений затрат на диагностику инвазий у каждого пациента, улучшение выявляемости гельминтозов среди населения и предотвращение роста заболеваемости описторхозом, трихоцефалезом: $20 + 21\,000 + 22\,500 = 122 \times 1000 = 63\,500$ рублей.

* * *

Таким образом, при изучении распространенности наиболее встречаемых гельминтов в Республике Беларусь установлено, что среди 293 861 окончательных хозяев для паразитов 748 поражены цестодами, трематодами и нематодами (0,255 %). Обнаружено 0,043 % случаев гименолепидоза (16 из 37 637 хозяев), 0,034 % – тениидозов (32 из 69 715 хозяев), 0,035 % – дифиллоботриоза (27 из 75 840 хозяев), 2,610 % – трихинеллеза (49 из 1 877 хозяев), 0,159 % – описторхоза (52 из 32 778 хозяев), 0,270 % – трихоцефалеза (148 из 55 433 хозяев), 2,060 % – аскаридоза (424 из 20 581 хозяина). Среди 151 561 промежуточных хозяев 100 были поражены цестодами. Обнаружено 0,025 % случаев цистицеркоза (36 из 139 287 хозяев), 0,203 % – нахождения процеркоидов *D. latum* (23 из 11 280 хозяев) и 4,124 % – нахождения плероцеркоидов *D. latum* (41 из 994 хозяев).

ГЛАВА 2.

ФОРМИРОВАНИЕ ХРОМОСОМНЫХ И ГЕНОМНЫХ МУТАЦИЙ В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ПРИ ГЕЛЬМИНТОЗАХ

Цитогенетические методы – наиболее чувствительные способы скрининга мутагенного влияния факторов окружающей среды. Они позволяют регистрировать вторичные повреждения наследственного материала на хромосомном и геномном уровнях организации наследственной информации [49]. Для оценки способности факторов среды вызывать хромосомные мутации чаще всего используют следующие цитогенетические методы: метод учета хромосомных aberrаций в метафазных клетках пролиферирующих тканей *in vitro* или *in vivo*; метод учета микроядер, который обычно применяют *in vivo* [46]. Методы основаны на микроскопическом учете видимых нарушений структуры хромосом (хромосомных aberrаций) в метафазных клетках. Рутинная окраска метафазных пластинок позволяет выявлять ахроматические пробелы, одиночные или парные ацентрические фрагменты хромосом, различные типы хромосомных обменов [128]. Использование дифференциальных окрасок позволяет регистрировать хромосомные инверсии и транслокации. Возникновение хромосомных aberrаций (ХА) всегда связано с индукцией молекулярных нарушений, приводящих к разрыву спирали ДНК, поэтому агенты, вызывающие ХА, в современной литературе часто называются кластогенами [55]. Учет ХА плохо поддается автоматизации и требует высокой квалификации исследователя, что приводит достаточно к большим затратам при экспертных оценках кластогенности ксенобиотиков.

В качестве альтернативы теста ХА предложен метод учета микроядер в эритроцитах костного мозга грызунов. Микроядра (МЯ) – внутриклеточные хроматиновые образования, имеющие собственную оболочку и обособленные от ядра, образуются от центрических фрагментов хромосом, оставших в анафазе из-за дефектов веретена деления. Увеличение выхода МЯ под действием фактора среды – свидетельство в пользу кластогенной активности этого вещества [128]. Микроядерный тест позволяет разграничить

кластогенное и анеугенное воздействия факторов окружающей среды при формировании мелких и крупных МЯ [49].

2.1. Кластогенные и анеугенные изменения в клетках хозяина во время инвазий гельминтами и при воздействии соматических белковых продуктов из их тканей.

А.Г. Гиновкер и соавт. и Н.Н. Ильинских показали, что инвазия метацеркариями *O. felineus* вызывает в клетках костного мозга золотистых хомяков повышение количества клеток с нарушениями в структуре и числе хромосом [52, 70]. Наиболее значимые цитогенетические изменения отмечались на 60-й и 120-й дни инвазии и характеризовались увеличением хромосомных разрывов, транслокаций, а также ростом уровней гипоплоидных, гиперплоидных и полиплоидных клеток [206]. Добавление водно-солевого экстракта описторхисов в культуры лимфоцитов крови доноров приводило к нарушениям в наследственном аппарате в виде увеличения числа аберрантных и гипоплоидных клеток [69]. В 2000-2001 гг. Е.Н. Ильинских и соавт. [127] была выявлена прямо пропорциональная зависимость у пациентов с хроническим описторхозом между числом лимфоцитов периферической крови с цитогенетическими нарушениями и титрами антител к антигенам вируса Эпштейн-Барр. Наиболее значимые изменения отмечались у пациентов с отягощенными формами хронического описторхоза [148]. Ю.А. Нестеренко и соавт. [101], анализируя полученные данные морфометрических исследований при экспериментальном описторхозе, достоверно установили, что изменения размеров диаметра ядер гепатоцитов печени золотистых хомяков в норме и при экспериментальном описторхозе колебались в разных пределах, и эти показатели были значимы.

При проведении цитогенетических исследований лимфоцитов крови пациентов с шистосомозом Мэнсона, Е.К. Shubber et al. [276] установили, что уровень хроматидных аббераций у них превышал показатель контрольной группы в 5,5 раза, а содержание хромосомных поломок было выше, более чем в 7 раз. Аналогичные данные отмечены и при анализе сестринских хроматидных обменов. Это позволило авторам сделать вывод, что заражение *Shistosoma*

mansonі является мутагенным фактором. F.M.A. Hamada et al. [284] было показано, что к 12-й неделе после заражения мышей кишечным шистосомозом в хромосомных наборах клеток костного мозга повышаются количества хромосомных делеций и дефишенсов. E.I. Aboul-Ela [152] обнаружил некоторый видоспецифический мутагенный эффект метаболитов *S. mansonі* на хромосомные наборы клеток костного мозга инвазированных мышей. Последний характеризовался образованием ХА в виде фрагментов, делеций, дефишенсов чаще в хромосомах 2-ой, 6-ой и реже – в 13-ой, 14-ой парах.

L. Serrano-Garcia и R. Montero-Montoya [275] показали, что в лимфоцитах крови свиней, зараженных метацестодами *T. solium*, отмечается повышение уровней МЯ и их предшественников в виде выпячиваний ядер хроматинового генеза. Инвазия цистицерками *T. solium* также приводит к повышению уровней ХА, гиперплоидных клеток [249, 265], сестринских хроматидных обменов в лимфоцитах зараженных свиней с наибольшей выраженностью на 6–8-й неделях инвазии [234]. Предполагается, что свиные цепни продуцируют вещества, которые вызывают генетическую нестабильность в клетках хозяина и могут приводить к малигнизации последних [234]. В дальнейшем L.A. Herrera et al. [227, 264], применив методы оценки ХА, гибридизации *in situ*, цитокенезис-блокирующий микроядерный тест, установили, что в лимфоцитах периферической крови пациентов с нейроцистицеркозом повышаются уровни МЯ, ХА (1, 2, 4 пары хромосом) и транслокаций (7, 11, 14 пары хромосом), которые могут стимулировать у пациентов гематологическую раковую трансформацию.

В.В. Побяржин и В.Я. Бекиш установили [121, 172], что метаболиты карликовых цепней приводят к достоверному росту количества гиперплоидных и аберрантных клеток в костном мозге инвазированных животных. Наиболее выраженные цитогенетические изменения у хозяина отмечались в период высокой биологической активности паразитов [123]. При проведении микроядерного теста было установлено, что метаболиты карликовых цепней вызывают рост микроядродержащих поли- и нормохроматофильных эритроцитов (ПХЭ и НХЭ) в костном мозге мышей-самцов линии СВА, инвазированных яйцами цестоды *H. nana* [117, 120, 123].

Увеличение количества микроядродержащих эритроцитов, которые образуются из целой хромосомы или из нескольких хромосом, сопровождалось изменением размера МЯ до средних и крупных (диаметр 0,2-0,4 мкм) [304]. Результаты исследований позволили говорить не только об кластогенном, но и об анеугенном воздействии метаболитов карликовых цепней на геном соматических клеток инвазированных животных [117, 120]. Тяжесть цитогенетических повреждений в наследственном аппарате соматических клеток хозяина при гименолепидозе была обусловлена дозой введенного инвазионного материала при заражении и носила линейный характер, достоверно возрастая при увеличении дозы заражения с 5 до 40 яиц/г [117, 123]. Изучение влияния подкожной сенсибилизации БСП из *H. nana* на изменения микроядерного теста в клетках семенников мышей линии СВА было проведено В.В. Побяржиным и В.Я. Бекишем [122]. Показано, что при дозе внутрибрюшинного введения в 25 мкг/г массы тела животного только на 28-й день опыта уровень сперматоцитов с МЯ в 6 раз превышал показатель интактного контроля. В структуре МЯ сенсибилизированных животных отмечался рост последних до средних и крупных размеров. На основании этого было предположено, что введение БСП из *H. nana* вызывает нарушения в наследственном аппарате предшественников генеративных клеток у животных, которые характеризуются увеличением числа сперматоцитов с МЯ в семенниках мышей линии СВА [118]. БСП из целых карликовых цепней обладает анеугенным и кластогенным эффектами на лимфоциты периферической крови доноров при их совместной культивации *in vitro*, что выражается в увеличении количества гиперплоидных и аберрантных клеток [119]. Уровень цитогенетических повреждений коррелировал с антигенной характеристикой крови человека по системе АВО(Н) и достоверно возрастал при увеличении концентрации добавленного БСП из *H. nana* со 100 до 500 мкг/мл. Он был наиболее выражен у лиц с АВ(IV) группой крови и не зависел от резус-фактора [119].

А.В. Степанов в 1993 г. [142, 143] определил, что трихоцефалезная инвазия у белых мышей способствует росту количества микроядродержащих эритроцитов в костном мозге, а также вызывает изменение числа и структуры хромосом в соматических клетках. Тяжесть цитогенетических повреждений

находилась в прямой зависимости от количества введенного инвазионного материала и достигала максимума на 30–40-й дни от заражения [143]. В костном мозге крыс линии Wistar и мышей линии СВА, сенсibilизированных антигеном из *Trichocephalus muris*, отмечался рост клеток с ХА и эритроцитов с МЯ [141]. О.-Я.Л. Бекиш и соавт. установили в 1994 г. [40], что трихоцефалезный антиген вызывает рост числа аберрантных лимфоцитов периферической крови доноров *in vitro*. Тяжесть цитогенетических нарушений была наиболее выражена у лиц с А(II) и АВ(IV) группами крови и зависела от концентрации антигена [40].

При миграционном аскаридозе в клетках костного мозга белых мышей были установлены кластогенное и анеугенное воздействия метаболитов личинок аскарид, что выразилось в виде повышения гипоплоидных, гиперплоидных и аберрантных клеток [20, 23]. Эффекты изменялись в соответствии с миграцией личинок аскарид по кровяному руслу и усиливались при росте интенсивности инвазии [13, 174]. Метаболиты мигрирующих личинок *Ascaris suum* обладают мутагенным воздействием на клетки костного мозга белых беспородных мышей-самцов, которое сопровождается увеличением числа микроядродержащих ПХЭ, НХЭ, а также ростом размеров МЯ до средних и крупных [11, 19, 20, 174]. Сходные данные по мутагенному влиянию миграции личинок аскарид на наследственный аппарат клеток крови свиней были получены В.В. Стибелем [144]. При реинвазии мигрирующих личинок *A. suum* метаболиты усиливают повреждения в наследственном аппарате соматических клеток хозяина, которые характеризовались ростом микроядродержащих ПХЭ и НХЭ в костном мозге и увеличением размеров МЯ [72, 176]. К возрастанию числа микроядродержащих ПХЭ и НХЭ в костном мозге мышей приводила трехкратная сенсibilизация БСП из целых аскарид и их тканей [22]. Факт роста числа гиперплоидных и аберрантных лимфоцитов был установлен вследствие изучения влияния БСП из целых аскарид на хромосомный аппарат лимфоцитов периферической крови доноров при их совместном культивировании *in vitro* [8]. Он был наиболее выражен у лиц с В(III) и АВ(IV) группами крови и зависел от дозы добавленного СП [8]. У пациентов с кишечным аскаридозом с умеренной степенью инвазии в культурах лимфоцитов периферической крови было

обнаружено увеличение числа аберрантных клеток в 4,36 раза по сравнению с донорами [35].

В.Я. Бекиш и соавт. [12, 173] определили, что заражение мышей линии СВА яйцами *A. suum* характеризуется ростом числа микроядродержащих сперматогониев, сперматоцитов и сперматид с выраженными изменениями на 14–28-й дни. Поздний рост числа микроядродержащих клеток семенников было объяснено авторами особенностями жизненного цикла клеток сперматогенеза, у которых время от стволовых сперматогониев до сперматозоидов составляет более 42-х дней [21, 171]. В наименьшей степени кластогенному воздействию метаболитов личинок аскарид были подвержены сперматиды, а наибольшему – сперматогонии, что объяснялось авторами наличием в семенниках гематотестикулярного барьера, а также снижением количества сперматид за счет элиминации поврежденных сперматогониев и сперматоцитов [18, 175].

Показано, что метаболиты личинок *Toxosara canis* обладают мутагенным воздействием на соматические клетки хозяина, что приводит к росту числа микроядродержащих ПХЭ в костном мозге [21]. Отмечалась четко выраженная зависимость изменения данных показателей от дозы введенного инвазионного материала при заражении на 3-й и 30-й дни [81]. При изучении с помощью микроядерного теста было установлено, что метаболиты личинок *T. canis* обладают кластогенным воздействием на генеративные клетки сперматогенеза хозяина, которое характеризуется ростом числа сперматогониев, сперматоцитов, сперматид с МЯ в семенниках мышей [21, 78, 80, 123]. При изучении хромосомных наборов лимфоцитов периферической крови у 32 пациентов с висцеральным токсокарозом в возрасте от 3 до 14 лет выявлен рост числа аберрантных клеток в 7,5 раз по сравнению с донорами [67]. В спектре хромосомных повреждений у пациентов с висцеральным токсокарозом преобладали одиночные (64,5 %) и парные (35,5 %) фрагменты.

По данным Л.В. Калинина и соавт. [71, 72], у зараженных инвазионными личинками трихинелл белых крыс, в костном мозге повышается уровни гипоплоидных и аберрантных клеток, которые достигали максимальных значений на 21-й и 30-й дни эксперимента. У инвазированных личинками трихинелл мышей отмечался рост

частоты ПХЭ с МЯ с 3-го и по 21-й день эксперимента с максимальной выраженностью в период миграции личинок трихинелл [71]. О.-Я.Л. Бекишем и соавт. [43] были установлены кластогенный и анеугенный эффекты секреторно-экскреторно-соматического продукта (СЭСП) *T. spiralis* на наследственный аппарат лейкоцитов периферической крови доноров *in vitro*, а также отмечено увеличение количества аберрантных и гипоплоидных лейкоцитов в периферической крови пациентов с трихинеллезом. Эффект последнего зависел от концентрации паразитарного продукта, добавленного в культуры лимфоцитов человека [43, 44].

Метаболиты личинок трихинелл обладают кластогенным воздействием также и на генеративные клетки сперматогенеза хозяина, которое ведет к росту в семенниках мышей числа микроядродержащих сперматогониев, сперматоцитов и сперматид [21, 25]. В период высокой биологической активности паразитов отмечаются наиболее выраженные цитогенетические изменения у хозяина. При тяжелом трихинеллезе установлен рост микроядродержащих сперматоцитов на 7-й день инвазии (кишечная стадия). На стадиях миграции (14–21-й дни) и инкапсуляции личинок трихинелл (28–60-й дни) отмечается наиболее выраженное мутагенное воздействие метаболитов трихинелл на генеративные клетки хозяина [24, 26]. Трихинеллы при низкой интенсивности заражения (10 личинок/г) приводят к достоверному повышению митотического индекса клеток костного мозга за счет накопления метафаз на кишечной стадии развития паразита; во время миграции личинок имела тенденция к повышению митотического индекса, тогда как на мышечной стадии подобных изменений не наблюдалось. При высокой интенсивности заражения (60 личинок/г) отрицательное влияние на митоз у хозяина проявляется на мышечной стадии развития личинок [147].

М. Hirai et al. был установлен рост ХА в периферической крови пациентов с филяриозами, проживающих на Филиппинах [184]. Т.Н. Сивковой было установлено, что белковый экстракт из нежизнеспособных замороженных личинок анизакид усиливает митотическую активность клеток красного костного мозга мышей при внутрибрюшинном заражении, а также вызывает повреждение митотического аппарата (рост числа многоядерных клеток,

асимметричного расхождения хромосом в анафазе, гомогенизация хромосом) [134]. Максимальное количество изменений зарегистрировано через 48 часов после введения белкового экстракта из тканей анизакид. Продукты анизакид обладают выраженным кариопатическим действием, нарушая процесс как соматических, так и половых клеток. Происходит интенсификация митоза и мейоза с образованием гигантских многоядерных клеток, ядрышек, нарушением полярности деления [135].

Суммарно все данные о кластогенном и анеугенном воздействии гельминтов представлены в таблице 2.1.

Таблица 2.1

Кластогенное и анеугенное воздействие гельминтов на клетки млекопитающих и человека.

Тип	Класс	Вид	Образование микроядер / хромосомные aberrаций / гетероплоидия	Тип поврежд. клеток: соматич./ генерат.	Виды хозяев: млекопит./ человек	Значимые сроки повреждений ядер клеток от начала инвазии	Наличие дозозавис. эффекта
Plathelminthes	Trematode	O. felineus	-/+ / +	+/-	+/-	60,120 дни	-
		S. mansoni	-/+ / -	+/-	+/+	12 неделя	-
	Cestodes	T. solium	+ / + / -	+/-	+/+	6-8 недели	-
		H. nana	+ / - / +	+/+	+/+	28 день	+
Nemathelminthes	Nematodes	T. trichiurus	+ / - / -	+/-	+/+	30-40 дни	+
		T. muris	+ / + / -	+/-	+/-	3,14 дни	+
		A. suum	+ / + / -	+/+	+/+	7,14 дни	+
		T. canis	+ / + / -	+/+	+/+	3,30 дни	+
		T. spiralis	+ / - / +	+/+	+/+	14, 21, 30, 60	+
		Filariidae	- / + / -	+/-	- / +		

Таким образом, кластогенным и анеугенным воздействием на соматические и генеративные клетки хозяина обладают метаболиты личинок карликовых цепней, аскарид, токсокар, трихинелл, вызывая рост цитогенетических повреждений (ХА, микроядродержащие клетки) как в соматических, так и генеративных клетках хозяина. Уровни нарушений в геноме хозяина при гельминтозах зависят от стадий развития паразитов и максимально выражены: на личиночной и имагинальной стадиях развития при гименолепидозе; на 14–28-й дни инвазии при миграционном аскаридозе; 3–21-й инвазии дни при висцеральном токсокарозе; на стадиях миграции и инкапсуляции личинок паразитов при трихинеллезе. От дозы введенного инвазионного материала при заражении зависит тяжесть цитогенетических повреждений в наследственном аппарате клеток сперматогенеза хозяина и кратно возрастает при ее увеличении в линейной зависимости.

2.2 Способы защиты наследственного аппарата соматических и генеративных клеток хозяина от кластогенного и анеугенного воздействий инвазий гельминтами.

Повреждения наследственного аппарата соматических и генеративных клеток хозяина при гельминтозах вызваны, по мнению В.Я. Бекиша и О.-Я.Л. Бекиша [34], развитием окислительного стресса в течение инвазий и непосредственным кластогенным и анеугенным воздействием метаболитов гельминтов. В связи с этим в конце 19 начале 21 века была проведена разработка эффективных способов защиты генома хозяина с целью блокирования основных механизмов кластогенного (формирование ХА, МЯ) и анеугенного (изменение числа хромосом) действий гельминтозных инвазий. Следует также отметить, что практически все антигельминтные препараты обладают кластогенным и анеугенным воздействиями на клетки млекопитающих в терапевтических дозировках [34]. К таким препаратам относят празиквантел [249], альбендазол [159], мебендазол [251] тиабендазол [204, 218, 221, 252, 287], хлоксил [99]. В комбинации с антигельминтным препаратом предлагалось применять витамины с антиоксидантным характером действия,

нестероидные противовоспалительные препараты в связи с нарушением обеспеченности ими организма хозяина витаминами [39, 41], а также способностью витаминов С, Е, каротиноидов, селена, индометацина обладать антикластогенным и антианеугенным действиями [185, 186, 202, 220, 241]. Такие исследования с применением микроядерного теста и оценки ХА были проведены при гименолепидозе, аскаридозе, висцеральном токсокарозе и трихинеллезе млекопитающих и человека.

В.Я. Бекиш и соавт. [9, 36] исследовали состояние генома хозяина, инвазированного карликовыми цепнями, при применении специфической, патогенетической, антиоксидантной комбинированной терапии гименолепидоза. Опыты были проведены на мышах-самцах линии СВА, которых заражали в дозе 20 яиц/г массы тела. Для терапии гименолепидоза были использованы празиквантел, индометацин и витамины А, Е, С и β -каротин. Инвазированные животные были пролечены на личиночной (3–5-й дни от заражения) и имагинальной (11–13-й дни от заражения) стадиях инвазии вышеуказанными препаратами и их комбинациями. Цитогенетические изменения оценивались по микроядерному тесту в клетках костного мозга и семенников. Для анализа свободнорадикальных процессов у каждого животного определяли изменения уровней малонового диальдегида (МДА), диеновых конъюгатов (ДК), а также активности каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) в гомогенатах семенников. При терапии гименолепидоза на имагинальной стадии у каждого животного учитывалось общее количество половозрелых паразитов *H. nana* в тонком кишечнике после лечения.

Установлено, что применение одного празиквантеля, а также его сочетания с индометацином или с комплексом витаминов на личиночной и имагинальной стадиях гименолепидоза не позволяет полностью защитить геном хозяина и стабилизировать свободнорадикальные процессы в гонадах зараженных животных. Только применение празиквантеля с индометацином и комплексом витаминов-антиоксидантов (А, Е, С и β -каротина) на личиночной и имагинальной стадиях гименолепидозной инвазии полностью элиминировало цитогенетические повреждения в организме хозяина, а также нарушения свободнорадикальных процессов, вызванных

воздействиями метаболитов карликовых цепней и стимулирующих образование свободных радикалов. Комплексная терапия празиквантелом с индометацином и витаминами-антиоксидантами обеспечила полную дегельминтизацию животных [9, 36].

А.В. Степановым и О.-Я.Л. Бекишем [140] было показано, что терапия трихоцефалеза у белых мышей мебендазолом в дозе 75 мг/кг массы тела животного сопровождалась снижением показателей аберрантных клеток в 1,7 раза, гипо- и гиперплоидных клеток в 1,5 раза по сравнению с инвазированным контролем на фоне тенденции к снижению митотического индекса. Одновременно происходит сокращение числа микроядродержащих клеток эритроцитарного ряда, а также уменьшается соотношение ПХЭ и НХЭ в костном мозге мышей. При терапии индометацином в дозе 2,14 мг/кг наблюдалось снижение уровня микроядродержащих клеток эритроцитарного ряда параллельно с уменьшением числа клеток, имеющих структурные нарушения хромосом. Сочетанная терапия экспериментального трихоцефалеза мебендазолом с индометацином вызывала снижение аберрантных клеток в 1,7, гипо- и гиперплоидных – в 1,6 и митотического индекса в 1,2 раза. Одновременно в костном мозге экспериментальных животных снижалось содержание ПХЭ с МЯ в 2,6 раза и НХЭ в 3,9 раза, а также соотношение ПХЭ и НХЭ в 1,3 раза. По мнению авторов, сочетанное назначение мебендазола с индометацином может быть использовано для защиты соматических клеток хозяина от кластогенного и анеугенного воздействий при трихоцефалезной инвазии [140].

Нами было изучено влияние кишечного аскаридоза средней тяжести на хромосомный аппарат лимфоцитов периферической крови пациентов до и после дегельминтизации мебендазолом [35]. В группе пациентов с кишечным аскаридозом до начала терапии число аберрантных клеток было повышено в 4,36 раза ($1,13 \pm 0,13$ %), чем в контрольной группе ($0,26 \pm 0,11$ %). Из общего числа поврежденных хромосом 82,36 % были одиночными и 17,64 % – парными фрагментами. В контрольной группе из общего числа аберрантных хромосом наблюдалось 66,67 % одиночных и 33,33 % парных фрагментов. После дегельминтизации у пациентов с кишечным аскаридозом уровень аберрантных клеток составил $0,46 \pm 0,16$ %, что достоверно в 2,45 раза было ниже, чем до дегельминтизации. Общее

количество аберраций было представлено одиночными (85,72 %) и парными (14,28 %) фрагментами [35].

В.Я. Бекишем и соавт. [10, 77, 79] было изучено влияние сочетанной терапии (специфической, патогенетической, антиоксидантной) на состояние генома хозяина при экспериментальном токсокарозе. Исследования выполнены на мышах-самцах линии СВА, зараженных в дозе 20 яиц/г массы тела. Для терапии токсокароза были использованы мебендазол, альбендазол, индометацин, бемитил как антикластогенный актопротектор [55], витамины А, Е, С и β -каротин. Инвазированных животных лечили с 27-го по 29-й дни от начала заражения вышеуказанными препаратами и их сочетаниями и умерщвляли на 30-й день инвазии. Для оценки цитогенетических изменений использовали микроядерный тест в клетках костного мозга и семенников. Учитывали изменения уровней МДА, ДК, а также активности каталазы и СОД в гомогенатах семенников. На основании проведенных исследований был сделан вывод, что при терапии токсокароза целесообразно назначать помимо антигельминтика индометацин или бемитил и комплекс витаминов антиоксидантного характера для снижения числа цитогенетических повреждений в клетках хозяина и нормализации свободнорадикальных процессов. Наилучшие результаты были получены при лечении мебендазолом с бемитилом и комплексом витаминов [10, 77, 79].

В.Я. Бекишем и соавт. в 2004 году был обоснован способ комбинированного лечения висцерального токсокароза человека мебендазолом, ибупрофеном и витаминами С, Е, β -каротином с селеном [131, 132]. Для оценки эффективности лечения учитывались проявления заболевания и структурные изменения хромосом в кариотипах лимфоцитов периферической крови больных. Для лечения висцерального токсокароза использованы мебендазол, витаминный антиоксидантный комплекс “АОК-Se” и ибупрофен. Продолжительность курса лечения определялась исчезновением основных симптомов заболевания и нормализацией сдвигов в кариотипах больных. На основании клинических результатов лечения пациентов с висцеральным токсокарозом Минздравом Беларуси утверждена инструкция на способ комбинированного лечения токсокароза, включающего специфическую, патогенетическую и

антиоксидантную терапию с учётом возраста пациентов, а также протокол обследования и лечения больных [130].

О.-Я.Л. Бекишем и Л.В. Калининым [42] было показано, что при лечении трихинеллеза животных антигельминтиком мебендазолом в дозе 75 мкг/г массы тела животного с 14-го по 17-й дни инвазии отмечается рост частоты цитогенетических нарушений в соматических клетках костного мозга хозяина, которые характеризуются повышением уровней аберрантных клеток и ПХЭ с МЯ по сравнению с зараженными нелечеными животными. Применение индометацина в дозе 2,14 мкг/кг в сочетании с мебендазолом вызывало снижение мутагенного эффекта трихинеллезной инвазии у животных в виде уменьшения частоты аберрантных и гипоплоидных клеток и снижения уровня ПХЭ с МЯ в костном мозге по сравнению с зараженными нелечеными крысами и мышами.

Нами было изучено состояние генома хозяина при специфической, патогенетической, антимутагенной терапии трихинеллеза средней тяжести у мышей-самцов линии СВА [17, 27]. Были использованы препараты для специфической терапии – мебендазол или альбендазол, патогенетической – индометацин, антимутагенной – бемитил и витаминный антиоксидантный комплекс “АОК – Se”, содержащий β-каротин, токоферол ацетат, аскорбиновую кислоту, Se. Влияние специфической, патогенетической и антимутагенной терапии экспериментального трихинеллеза исследовалось на показатели микроядерного теста в клетках костного мозга и семенников мышей. Препараты и их комбинации вводили на миграционной (14–19-й дни) и на стадии инкапсулированных (32–37-й дни) личинок трихинелл. Для оценки эффективности терапии инвазии в диафрагме подопытных животных исследовали общее количество личинок трихинелл методом переваривания в искусственном желудочном соке. На отдельной группе трихинеллезных животных проведено изучение активности сперматогенеза хозяина при терапии трихинеллеза на стадии мигрирующих личинок. Назначение мебендазола с индометацином или бемитилом в комбинации с комплексом “АОК-Se” на стадиях мигрирующих и инкапсулированных личинок трихинелл оказалось более эффективным способом защиты генома хозяина, чем

применение только антигельминтика с индометацином или бемитилом. Назначение указанных выше комбинаций препаратов приводило к более интенсивному снижению микроядродержащих клеток костного мозга и семенников до показателей интактного контроля и повышению активности сперматогенеза. Кроме того, у зараженных животных, получавших мебендазол с индометацином или бемитилом в комбинации с витаминным антиоксидантным комплексом с Se, было отмечено максимальное снижение числа личинок в диафрагме в 5,68 - 8,6 раз по сравнению с инвазированными нелечеными животными. Этот эффект был обусловлен более сильным трихинеллоцидным действием мебендазола по сравнению с альбендазолом. Комбинированная терапия альбендазолом с индометацином или бемитилом в сочетании с витаминным антиоксидантным комплексом с Se на стадии мигрирующих личинок трихинелл характеризовалась достоверным снижением количества микроядродержащих клеток костного мозга и семенников до показателей интактного контроля, а также повышением активности сперматогенеза. Наилучшие результаты защиты генома хозяина были достигнуты при применении терапии трихинеллеза альбендазолом с индометацином или бемитилом в комбинации с витаминным антиоксидантным комплексом с Se на стадии инкапсулированных личинок. Все исследуемые уровни микроядродержащих клеток костного мозга, семенников у трихинеллезных мышей не отличались от показателей интактного контроля, а число личинок в диафрагме пролеченных животных снижалось в среднем в 2,3 раза по сравнению с данными чистой инвазии [17, 27].

О.-Я.Л. Бекишем и соавт. [47] было разработано комплексное лечение трихинеллеза, включающее специфическую (мебендазол), патогенетическую (индометацин) и антиоксидантную (витамины С, Е, β -каротин с Se) терапии. На основании клинических результатов лечения пациентов с трихинеллезом Минздравом Беларуси утверждена инструкция на способ комбинированного лечения трихинеллеза, включающий специфическую, патогенетическую и антиоксидантную терапию с учетом тяжести заболевания и возраста пациентов, а также протокол обследования и лечения пациентов в стационаре [46]. Предложенный способ позволял защитить

наследственный аппарат соматических клеток пациента от кластогенного воздействия трихинелл по сравнению с лечением только одним мебендазолом и снижал число лейкоцитов с ХА до показателей доноров крови [47].

* * *

Таким образом, при применении методов оценки кластогенных и анеугенных повреждений (микроядерный тест, оценка ХА) было установлено, что при гименолепидозе, аскаридозе, висцеральном токсокарозе и трихинеллезе млекопитающих и человека применение антигельминтика (празиквантел, мебендазол, альбендазол) с индометацином и комплексом витаминов антиоксидантного характера с селеном снижает высокие уровни МЯ, ХА в соматических, генеративных клетках хозяина.

ГЛАВА 3. ПЕРВИЧНЫЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК И АПОПТОЗ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ КЛЕТОК ХОЗЯИНА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИНВАЗИЙ ГЕЛЬМИНТАМИ

3.1. Применение метода “ДНК-комет” для оценки цитогенетической нестабильности при воздействии факторов среды

Учет ППЯ молекулы ДНК при воздействии генотоксических факторов среды у про- и эукариот проводят с помощью методов оценки структуры двуцепочечной полимерной структуры ДНК, регистрации модифицированных оснований ДНК, учета меченных оснований, включенных в макромолекулы при репарации повреждений [51, 55].

Современным чувствительным методом фиксации ППЯ молекулы ДНК отдельных клеток при воздействии факторов окружающей среды считается гель-электрофорез изолированных клеток – “Comet assay” или метод “ДНК-комет” [190, 223, 238]. В 1984 г. метод предложили О. Osting и К. J. Johanson [240] для оценки в клетках млекопитающих индуцированных радиацией ДНК-повреждений. Позднее его детальная разработка была завершена N. P. Singh et al. в 1988 г [157] и P. L. Olive et al. в 1990 г [255], которые предложили модификацию метода со щелочным гель-электрофорезом, которая получила наибольшее признание у исследователей вследствие высокой чувствительности и возможности обнаружения двуцепочечных разрывов ДНК. Основное преимущество метода ДНК-комет перед другими методами регистрации повреждений ДНК заключается в возможности детекции повреждений на уровне одиночных клеток эукариот практически любого происхождения [136, 146].

Общая схема метода состоит из получения гель-слайдов (подложки), получения микропрепаратов, лизиса, щелочной денатурации, электрофореза, нейтрализации/фиксации, окрашивания и микроскопического анализа. Стандартные предметные стекла, которые покрывают агарозным гелем (0,5-1 %), используют для получения гель-слайдов. На подготовленные гель-слайды наносят исследуемые клетки, которые заключают в агарозный гель. После

того, как гель затвердевает, клетки подвергают лизису, в процессе которого происходит диссоциация клеточных структур и выпетливание хроматина в поры агарозы. Далее препараты подвергаются щелочной денатурации ($pH > 13$), в результате которой щелочно-лабильные сайты в ДНК реализуются в одностранные разрывы. При электрофорезе под влиянием электрического поля ДНК в виде фрагментов и петель сверхполимерных молекул мигрирует к аноду, формируя хвост кометы; ядром ее является полость, заполненная ДНК. После завершения щелочного электрофореза слайды нейтрализуют/фиксируют, окрашивают и микроскопируют под флуоресцентным микроскопом. В простейшем варианте с помощью микрометрической линейки измеряют длину кометы, диаметр головы и длину хвоста кометы. Измерения могут быть выполнены непосредственно под микроскопом, с микрофотографий или с сохраненных цифровых изображений. Использование компьютерного анализа цифровых изображений расширяет исследовательские возможности метода. В этом случае могут быть измерены такие показатели, как общее содержание ДНК в комете, доля материала в голове кометы, доля материала в хвосте кометы. Высокая чувствительность, небольшое количество материала, требуемого для исследования, а также применимость практически к любым клеткам, содержащим ДНК, обуславливает широту использования метода “ДНК-комет” для решения разнообразных задач в области генетической токсикологии.

Практически ежегодно проводятся международные семинары под названием “Comet Assay”, которые посвящены практическим и теоретическим аспектам применения метода “ДНК-комет”. Их проведение направлено как на опытных исследователей применяющих этот метод, так и для новых пользователей этого популярного, международно-принятого способа определения ППД ДНК, апоптоза клеток. Первый семинар был проведен в 1995 г. как спутник 2-й Международной конференции по мутагенам окружающей среды. На семинарах, которые в основном проходили в странах Евросоюза обсуждались основные моменты прошлого, настоящего и будущего метода “ДНК-комет”, последние достижения в области разработки и применения метода, тестирование генотоксичности, биомониторинга человека, репарации ДНК,

экологического биомониторинга и клинических исследований. Следующий 12-й Международный семинар “Comet Assay” пройдет в августе 2017 года в университете Наварры (Испания).

Метод “ДНК-комет” основан на регистрации различной подвижности в постоянном электрическом поле ДНК и возможных фрагментов ДНК лизированных клеток, заключенных в агарозный гель. При этом ДНК мигрирует к аноду, формируя электрофоретический след, напоминающий “хвост кометы”, параметры которого зависят от степени поврежденности исследуемой ДНК (Рис. 3.1 а, б). Оценка результатов основана на гипотезе, что вызванные генотоксическими факторами повреждения ДНК ядра состоят из низкомолекулярных участков, разрывов, репарационно-вырезанных повреждений и щелочно-лабильных участков ДНК [4, 187, 288]. Изображения комет на микропрепаратах вводятся в ПЭВМ и оцифровываются. Учет повреждений молекулы ДНК проводится путем анализа цифровых изображений автоматическими программами [153, 222]. Это облегчает оценку полученных результатов. С каждого микропрепарата в среднем подсчитывается по 100 клеток, в каждой из которых учитывается длина “хвоста кометы” в пикселях, процент ДНК в “хвосте” и “момент хвоста”, вычисленный из длины “хвоста кометы” умноженный на процент ДНК в “хвосте кометы” [188, 223, 295].

Гель-электрофорез изолированных клеток позволяет оценить не только генотоксическое, но и цитотоксическое воздействия исследуемых факторов, определяющих рост процента первично-апоптотических клеток (Рис. 3.1 а, в) [57, 98]. Последние имеют минимальные размеры ядра и большой “хвост”, разбросанный во все стороны [187, 193]. Метод “ДНК-комет” имеет широкие возможности оценки повреждений, вызываемых генотоксическими факторами в соматических тканях, поскольку может проводиться в одновременно в гомогенизированных тканях желудка, кишечника, печени, почек, легких, селезенки, мочевого пузыря, костного мозга одного экспериментального животного [158, 207, 279, 280, 296]. Исследуются также генеративные клетки, а именно сперматозоиды млекопитающих и человека [209, 233, 254, 269, 270, 277, 290], ооциты человека [191]. После обработки сперматозоидов протеиназой К применяются щелочная [211, 270, 290,] и нейтральная [208, 294]

версии метода. Возможно изучение *in vitro* действия генотоксикантов на нервные и глиальные клетки человека [189].

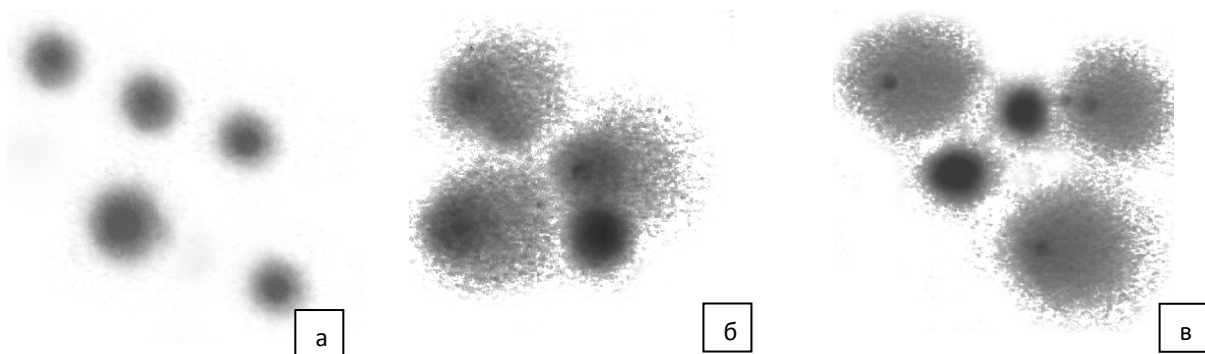


Рис. 3.1. Вид клеток костного мозга мышей при проведении щелочного гелевого электрофореза изолированных клеток (метод “ДНК-комет”): а – клетка в норме, б – клетки с поврежденными участками ДНК, в – апоптотическая клетка (x700).

В своих исследованиях мы использовали щелочной гелевый электрофорез изолированных клеток (метод “ДНК-комет”) по N.P. Singh et al. [157] в модификации В. Hellman et al. [223] с собственными изменениями [56].

Метод “ДНК-комет” мы проводили на различных типах клеток млекопитающих и человека, а именно: соматические клетки – костный мозг, лимфоциты периферической крови, печень; половые клетки – семенников; эмбриональные клетки – эмбрионы млекопитающих. Для проведения метода “ДНК-комет” в каждом типе клеток было необходимо получить клеточную суспензию.

Получение клеточных суспензий костного мозга, семенников мышей.

Животных умерщвляли путем декапитации и выделяли бедренные кости, семенники. Шприцом с 2 мл среды RPMI-1640 тонкой иглой вымывали костный мозг. С семенников удаляли оболочку и выделяли семенные каналцы, которые промывали в фарфоровой ступке с 5 мл 2,2 % раствора трехзамещенного цитрата натрия. После удаления раствора семенные каналцы измельчали изогнутой препаровальной иглой в 3 мл свежего раствора цитрата натрия и переносили в пробирки. Пробирки выдерживали 5 мин при комнатной температуре для осаждения крупных фрагментов семенных каналцев, после чего верхний слой жидкости переносили во вторую пробирку. Суспензии клеток костного мозга, семенников

дважды отмывали в 3 мл среды RPMI-1640 путем 10 - минутного центрифугирования при 1100 об/мин и температуре 8° С. После второй отмывки супернатант удаляли, осадок разводили средой RPMI-1640 до конечной концентрации клеток $1-5 \times 10^6$ клеток на 1 мл.

Получение клеточных суспензий печени животных.

Животных умерщвляли путем декапитации под эфирным наркозом, выделяли печень. Навеску печени помещали в фарфоровую ступку и измельчали глазными ножницами, затем пестиком в 3 мл среды RPMI-1640. После этого образцы печени переносили в центрифужные пробирки на 10 мл. Пробирки выдерживали 5 минут при комнатной температуре для осаждения крупных фрагментов, далее верхний слой жидкости переносили во вторую пробирку. Суспензии клеток печени трижды отмывали в 7 мл среды RPMI-1640 путем 10-минутного центрифугирования при 1100 об/мин и температуре 8°С. После третьей отмывки в пробирке оставляли 1,5 мл клеточной суспензии, которую тщательно перемешивали. Для разведения 30 мкл клеточной суспензии переносили в третью пробирку и добавляли 200 мкл среды RPMI-1640.

Получение клеточных суспензий эмбрионов мышей [114].

От каждой самки брали по три жизнеспособных подвижных плода, которых помещали в фарфоровую ступку и измельчали глазными ножницами, затем пестиком в 3 мл среды RPMI-1640, после переносили в центрифужные пробирки на 10 мл. Пробирки выдерживали 5 минут при комнатной температуре для осаждения крупных фрагментов, после чего верхний слой жидкости переносили во вторую пробирку. Суспензии эмбриональных клеток трижды отмывали в 7 мл среды RPMI-1640 путем 10-минутного центрифугирования при 1100 об/мин и температуре 8°С. После третьей отмывки в пробирке оставляли 1,5 мл клеточной суспензии, которую тщательно перемешивали. Для разведения 30 мкл клеточной суспензии переносили в третью пробирку и добавляли 200 мкл среды RPMI-1640.

Получение клеточных суспензий лимфоцитов.

У пациентов с гельминтозами и доноров из локтевой вены асептически отбирали около 2 мл крови и переносили в стерильные пробирки, содержащие 200 мкл раствора гепарина (250 МЕ/мл).

Цельную кровь смешивали с равным объемом среды RPMI-1640 (без L-глутамина) и осторожно наслаивали на 3 мл градиентной смеси фикола Ficoll-Paque (или аналогичной) плотностью 1,077 и центрифугировали при 400 об/мин в течение 40 мин. Образовавшиеся на разделе фаз “кольцо” из моноклеаров аккуратно отбирали пипеткой и дважды отмывали средой RPMI-1640 центрифугированием при 400 об./мин. в течение 10 мин. После второй отмывки осадок разводили в среде RPMI-1640 до концентрации клеток $1-5 \times 10^5$ /мл и помещали до использования в холодильник при 4 °C.

Проведение щелочной версии гель-электрофореза изолированных клеток.

Использовались одноразовые предметные стекла с 1/4 шероховатой поверхности и покровные стекла 24 x 40 мм фирмы Sigma. На предметных стеклах предварительно стеклографом рисуется прямоугольник на нешероховатой поверхности. Расстояние от края стекла до нарезанного канала около 3-4 мм. Это было необходимо для лучшей фиксации агарозы за шероховатый край и царапину на стекле. Далее наносили 2 слоя агарозы с низкой точкой затвердевания: первый – 100 мкл 0,8 % раствора агарозы на бидистиллированной воде, второй – 60 мкл раствора, состоящего из 30 мкл заранее приготовленной клеточной суспензии и 210 мкл 0,8 % агарозы с низкой точкой плавления на фосфатном буфере. Агароза предварительно растворялась при применении водяной бани в микроволновой печи при мощности 150 W, в течение 2 минут. Предметные стекла с первым слоем агарозы нагревали до t 37-40° C на нагревательном столике. 60 мкл “агарозного раствора клеток” дозатором наносили на край стекла, противоположный шероховатому. Наконечником дозатора плашмя растягивали раствор по всей нешероховатой поверхности и накрывали покровным стеклом под углом так, чтобы не было пузырей. После нанесения второго слоя микропрепараты выдерживали 10 мин на плоской емкости со льдом до образования геля, после чего аккуратно снимали покровные стекла (тянули за край) и помещали в штатив для микропрепаратов в химическом стакане емкости со льдом. Лизис клеток проводили в течение 1 часа при 4° C в лизирующем растворе (2,5 M NaCl, 100 mM Na₂ЭДТА, 10 mM трис-буфера с pH 10,0 + 1 % Тритона X-100 и 10 %

диметилсульфоксида). По окончании лизиса микропрепараты погружали в камеру для электрофореза, содержащую щелочной буфер (300 мМ NaOH, 1 мМ Na₂ЭДТА, pH > 13), на 40 мин для раскручивания цепей ДНК и выявления щелочно-лабильных сайтов. Электрофорез проводили в течение 10 мин при напряжении 25 V и силе тока 300 mA. После окончания электрофореза микропрепараты обрабатывали в течение 15 мин нейтрализующим раствором (0,4 М трис-буфер, pH - 7,5) и высушивали 1 сутки при комнатной температуре до окрашивания. Этапы метода от лизиса клеток до окончания нейтрализации проводили в затемненном помещении при желтом освещении. Для проведения метода использовались камера с силовой установкой для электрофореза и все химические реактивы фирмы Sigma. Полученные микропрепараты зашифровывались независимым лицом и окрашивались 35 мкл раствором этидия бромид (20 мкг/мл). Анализ микропрепаратов проводили на люминисцентном микроскопе Микмед-2 фирмы ЛОМО при увеличении 600х с установленными светофильтрами: возбуждающим (546 нм) и отсекающим (590 нм) люминисценцию. Изображения комет на микропрепаратах фотографировали с помощью цифровой фотокамеры Nikon Coolpix-4500. С каждого микропрепарата получали от 20 до 30 цифровых изображений. Учет повреждений молекулы ДНК проводили путем анализа цифровых изображений автоматической программой "CASP v. 1.2.2", разработанной сотрудниками Вроцлавского университета и института теоретической физики Польши в 2003 г. (Рис. 3.2). С каждого микропрепарата подсчитывалось по 100 клеток, в каждой из которых учитывали "длину хвоста" кометы в пикселях, а также процент ДНК в "хвосте". В качестве основного международнопринятого показателя генотоксического воздействия факторов среды использовали "момент хвоста", вычисленный из "длины хвоста", умноженной на процент ДНК в "хвосте". Для оценки цитотоксического воздействия метаболитов аскарид на клетки костного мозга, семенников, эмбрионов мышей в 100 случайно выбранных клетках определяли процент апоптотических, изображения которых характеризуют минимальные размеры ядра и большой хвост, разбросанный во все стороны. Полученные цифровые результаты анализировались при использовании программы Microsoft Excel 2010. Вычислялась

средняя арифметическая и ее среднее квадратическое отклонение (M+SD). Достоверность полученных результатов определяли по t-критерию Стьюдента при $P < 0,01-0,05$.

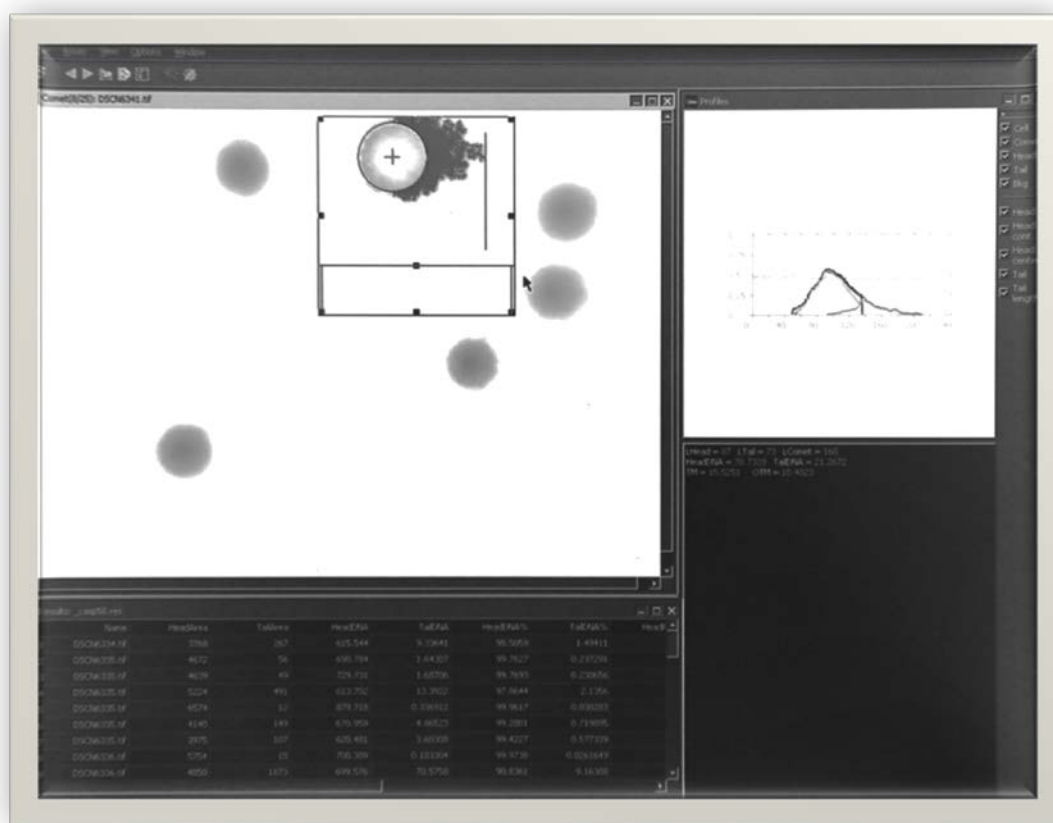


Рис. 3.2. Вид рабочего окна программы “CASP v. 1.2.2” при проведении щелочного гель-электрофореза изолированных клеток (метод “ДНК-комет”).

3.2. Генотоксические и цитотоксические воздействия паразитических плоских и круглых червей на соматические и генеративные клетки млекопитающих различных семейств

3.2.1. Трематоды

В 2014 г. нами были изучены возможные генотоксические и цитотоксические эффекты в клетках периферической крови, печени, костного мозга хозяина при экспериментальном описторхозе одновременно [67, 94]. Исследования проводили на 90 золотистых хомяках, которых разделяли на две группы (контрольная и опытная) с

одинаковым количеством животных в каждой. Опытную группу разделили на девять подгрупп, по 5 животных в каждой, в зависимости от срока забоя. Всем подгруппам животных вводили внутривенно жизнеспособных метасцеркариев *O. felineus* из расчета 2 на 1 г массы тела. Исследования проводили на 7-й, 14-й, 21-й, 28-й, 35-й, 60-й, 90-й, 120-й и 150-й дни от заражения.

Установлено, что в клетках крови золотистых хомяков “длина хвостов комет” при инвазии достоверно повышалась в среднем в 1,2-2,7 раза с максимальными значениями на 7-й, 21-й и 28-й дни инвазии, а процент ДНК в “хвостах комет” в 1,8-3,1 раза с наибольшими показателями на 7-й, 14-й, 21-й дни наблюдения (Рис. 3.3 - 3.4). Основным показателем генотоксичности (“момент хвоста”) возрастал в 2,7-8,2 раза, а цитотоксичности – в 2,6-8,3 раза (Рис. 3.5 - 3.6).

Исследование клеток костного мозга у золотистых хомяков также выявило достоверные изменения на всех сроках наблюдения (Рис. 3.7 - 3.10). В клетках костного мозга “длина хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет” возрастали в 1,8-2,9 и 1,9-6,3 раза соответственно.

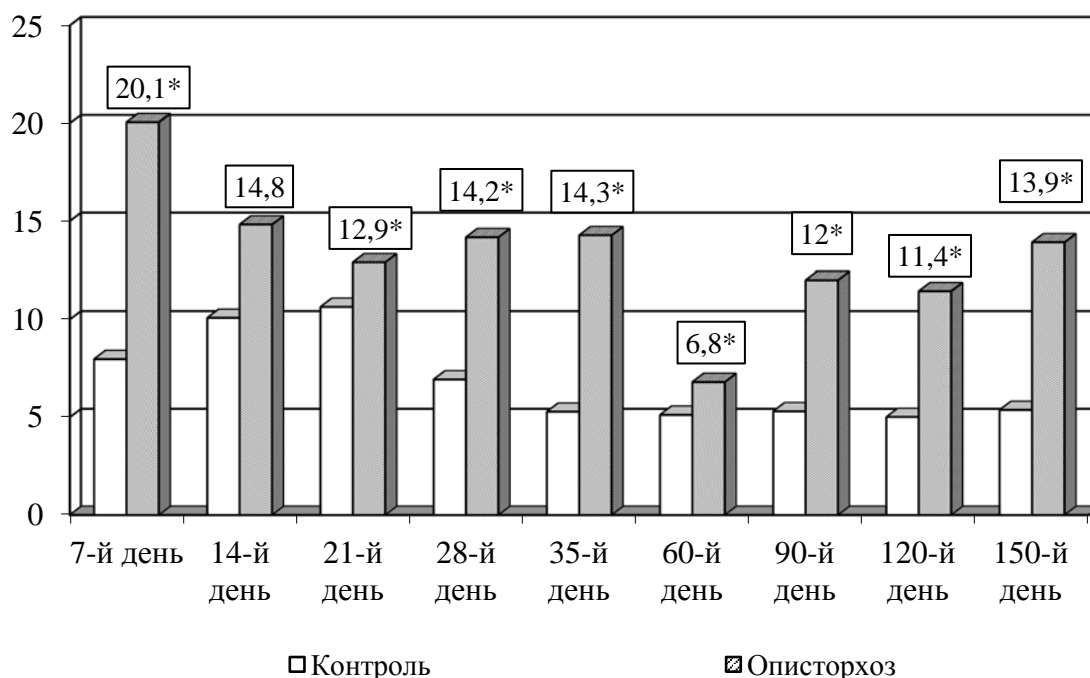


Рис. 3.3 “Длина хвостов комет” (в пикселях) клеток крови золотистых хомяков при описторхозе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* - достоверное отличие от данных интактного контроля).

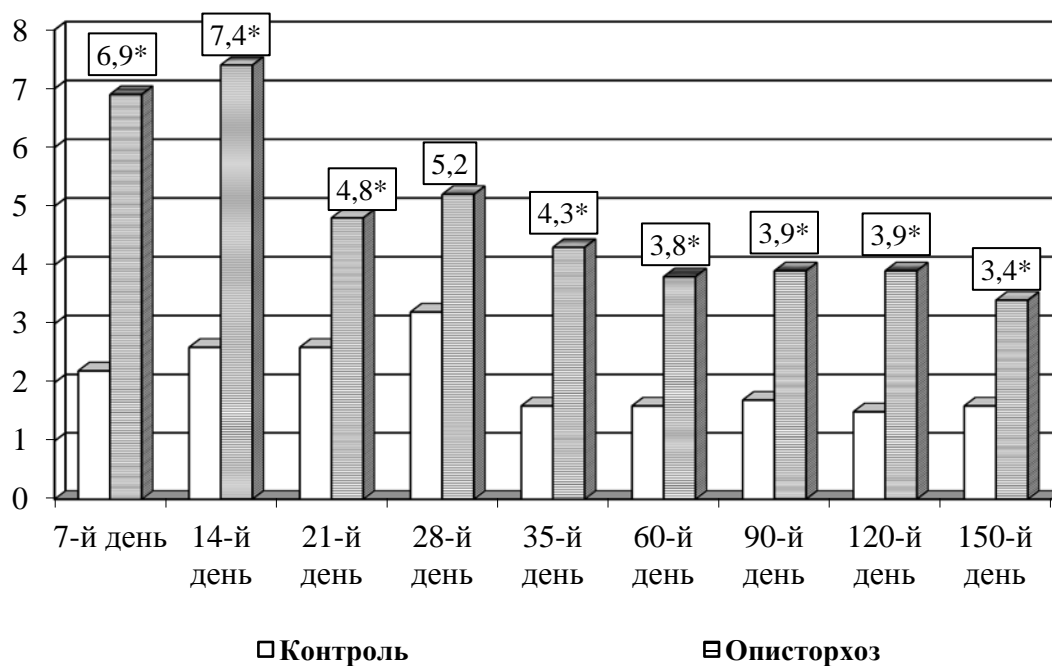


Рис. 3.4 Процент ППЯ ДНК клеток крови золотистых хомяков при описторхозе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* - достоверное отличие от данных интактного контроля).

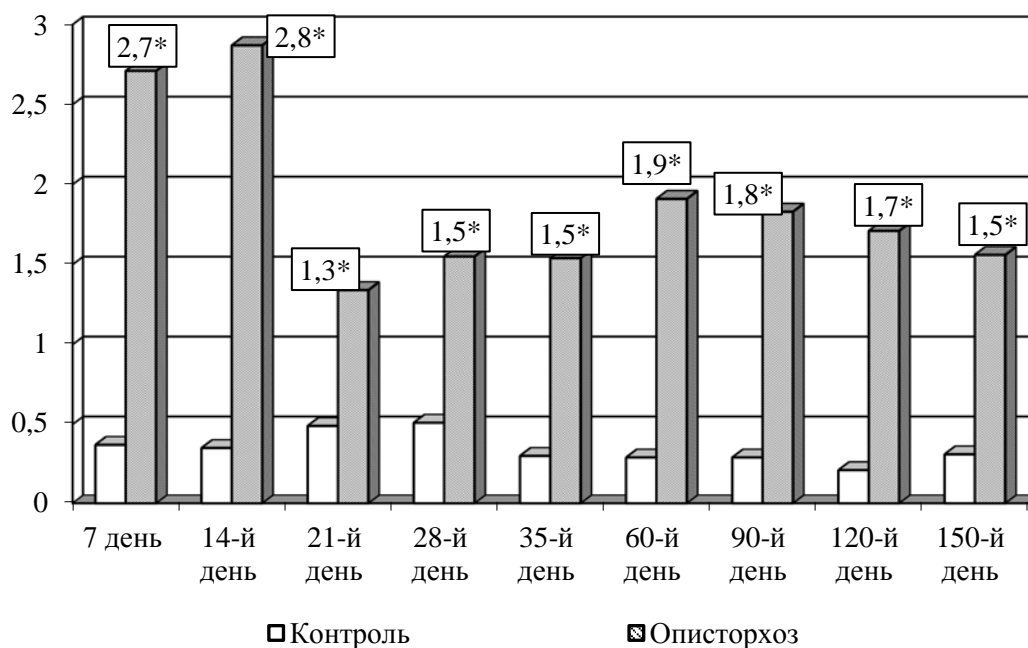


Рис. 3.5 “Момент хвоста” клеток крови золотистых хомяков при описторхозе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* - достоверное отличие от данных интактного контроля).

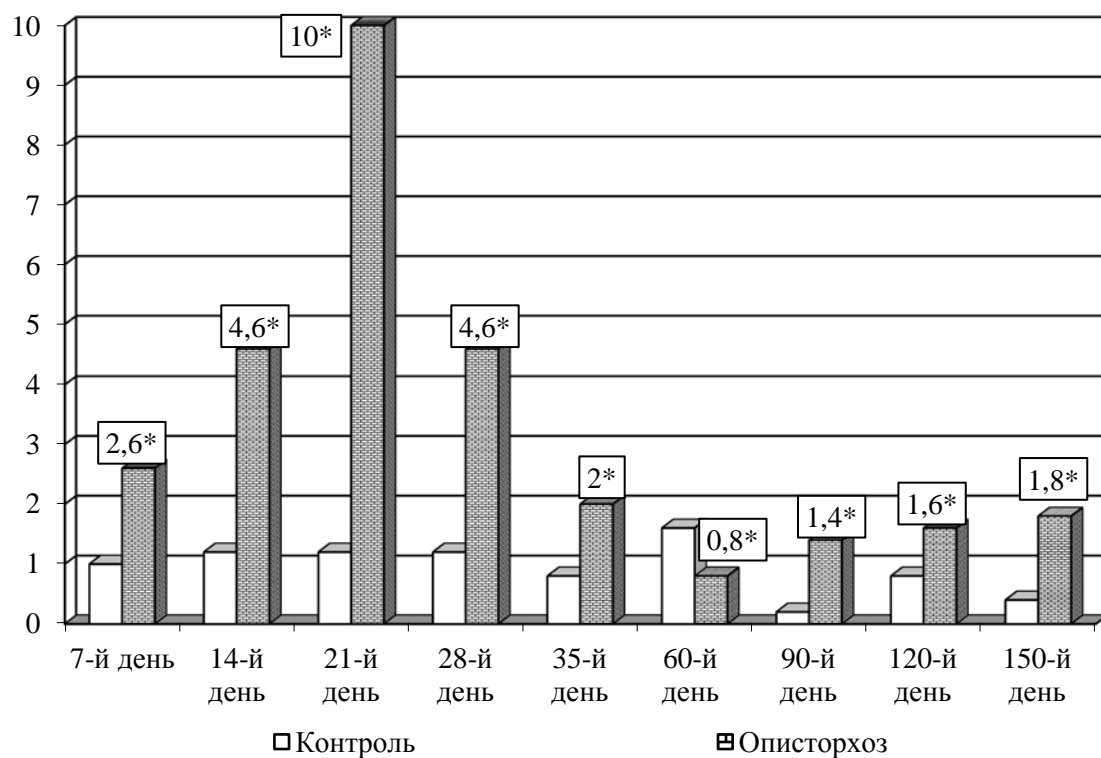


Рис. 3.6 Процент апоптотических клеток крови золотистых хомяков при описторхозе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* - достоверное отличие от данных интактного контроля).

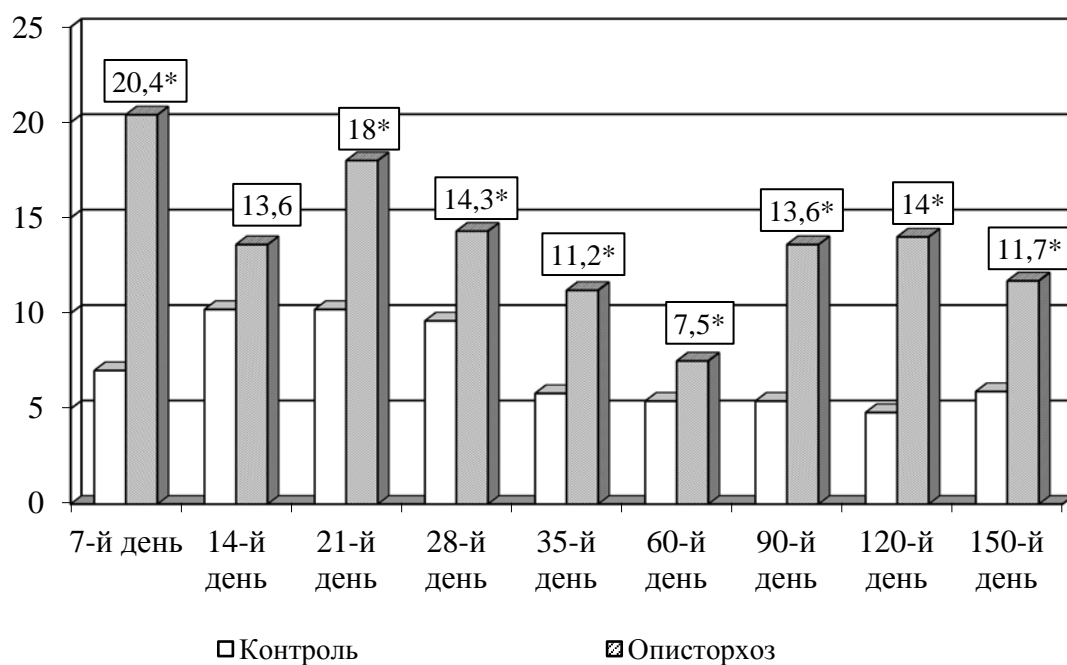


Рис. 3.7 “Длина хвостов комет” (в пикселях) клеток костного мозга золотистых хомяков при описторхозе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* - достоверное отличие от данных интактного контроля).

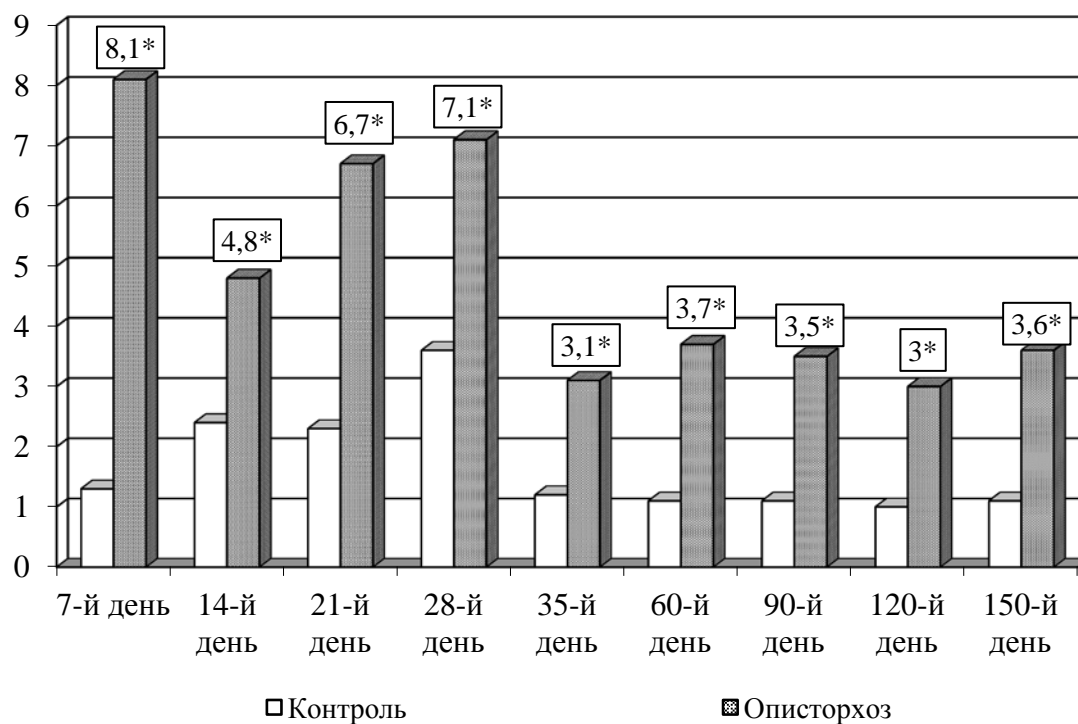


Рис. 3.8 Процент ППЯ ДНК клеток костного мозга золотистых хомяков при описторхозе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* - достоверное отличие от данных интактного контроля).

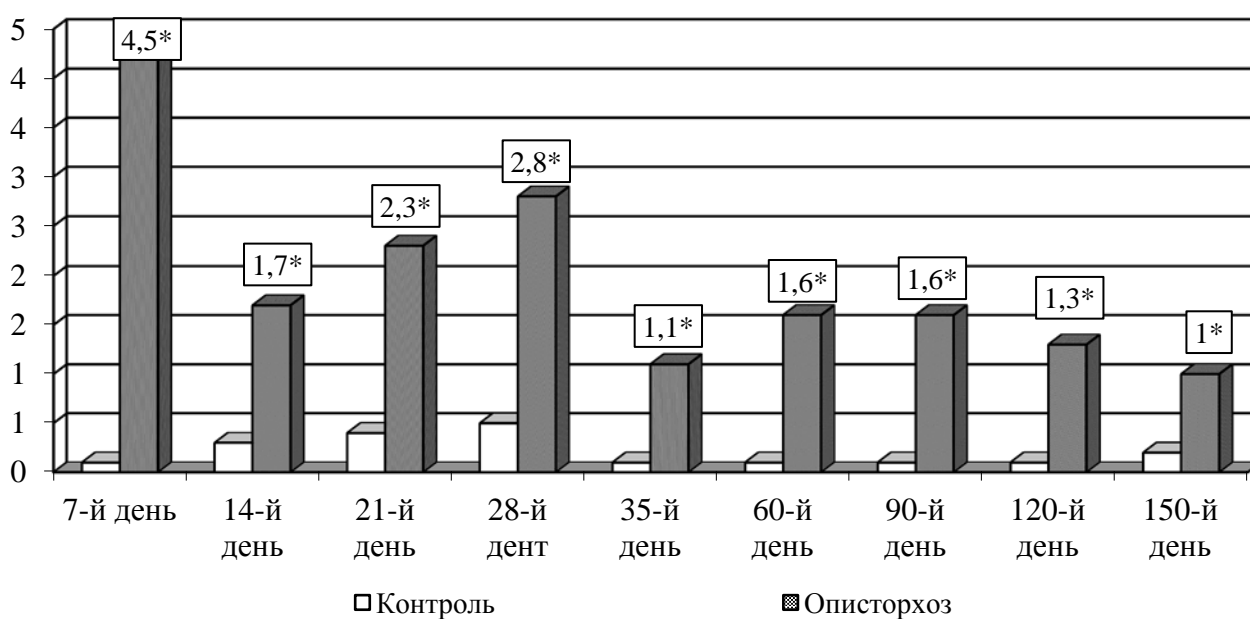


Рис. 3.9 “Момент хвоста” клеток костного мозга золотистых хомяков при описторхозе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* - достоверное отличие от данных интактного контроля).

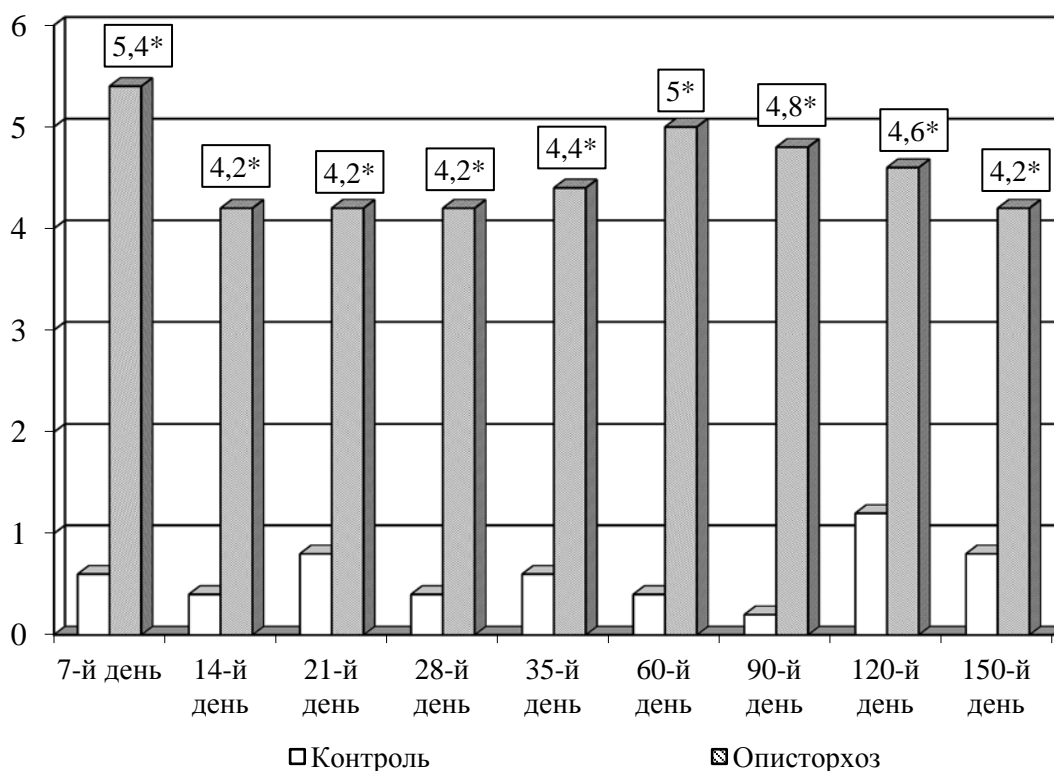


Рис. 3.10 Процент апоптотических клеток костного мозга золотистых хомяков при описторхозе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* - достоверное отличие от данных интактного контроля).

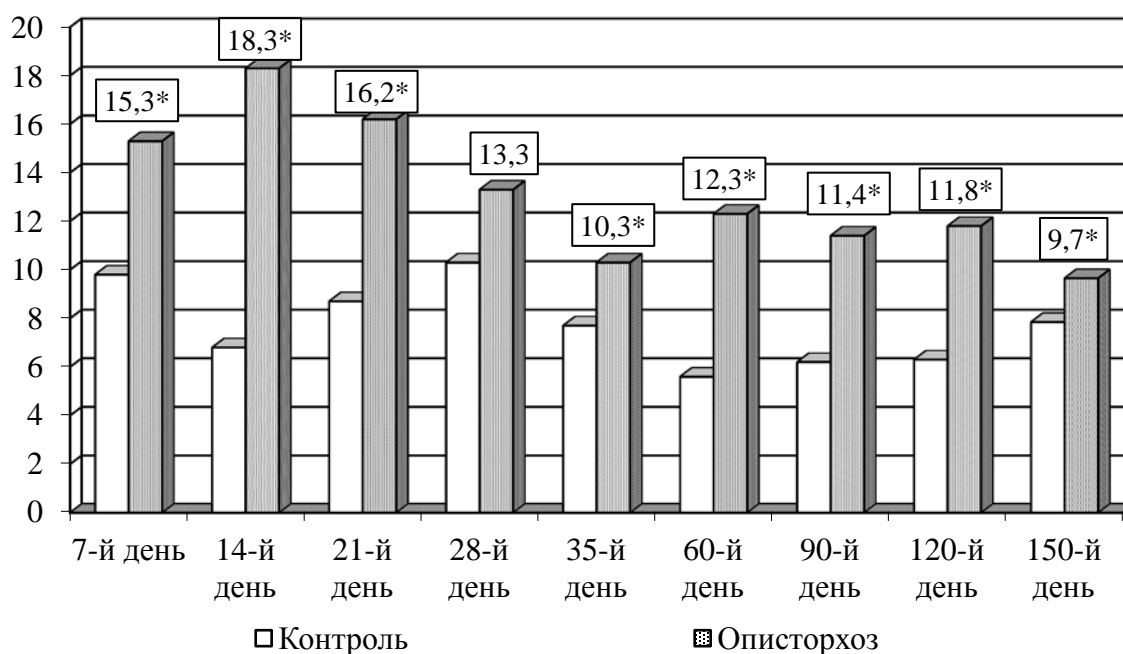


Рис. 3.11 “Длина хвостов комет” (в пикселях) клеток печени золотистых хомяков при описторхозе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* - достоверное отличие от данных интактного контроля).

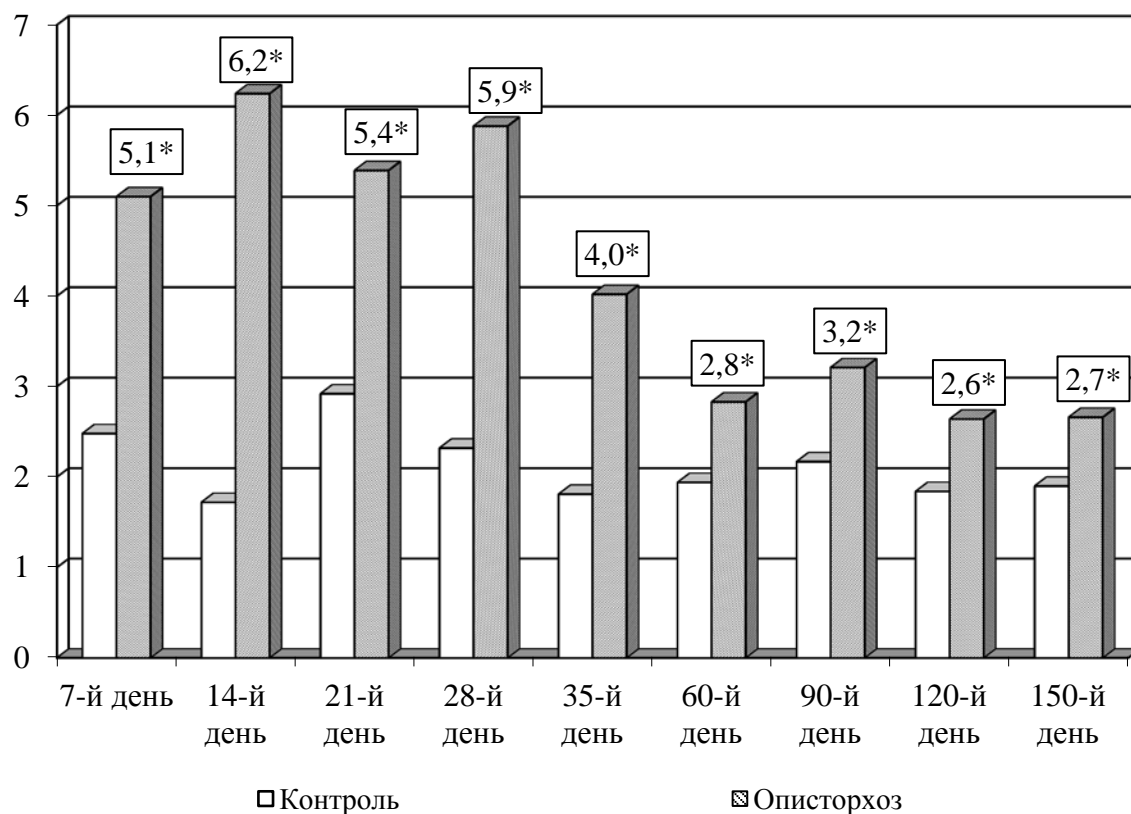


Рис. 3.12 Процент ППЯ ДНК клеток печени золотистых хомяков при описторхозе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* - достоверное отличие от данных интактного контроля).

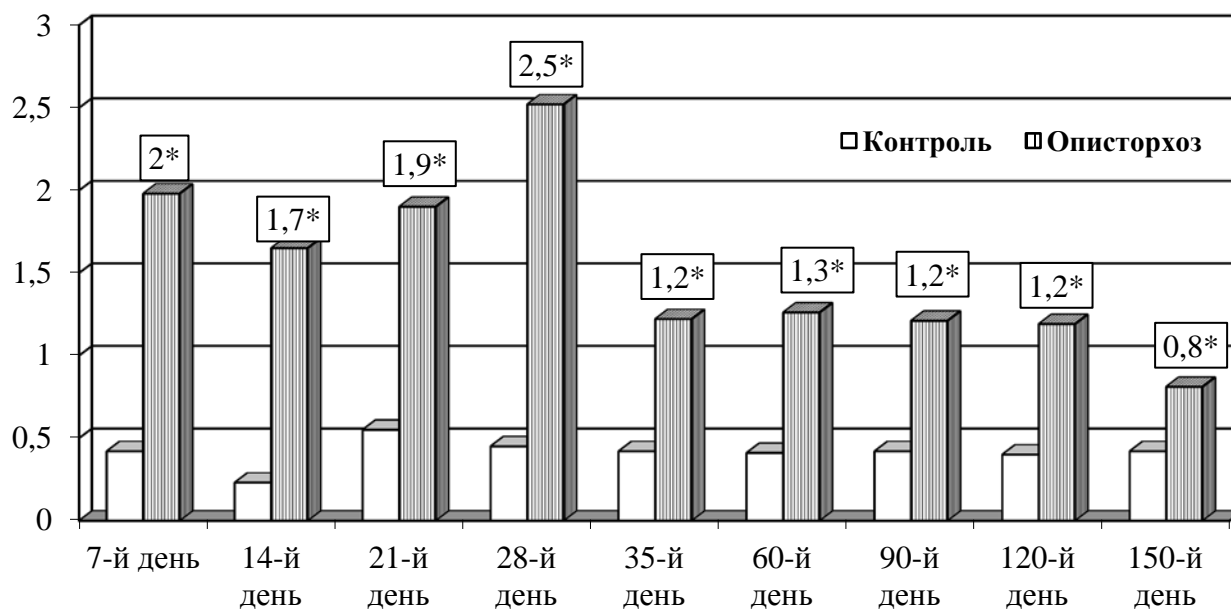


Рис. 3.13 “Момент хвоста” клеток печени золотистых хомяков при описторхозе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* - достоверное отличие от данных интактного контроля).

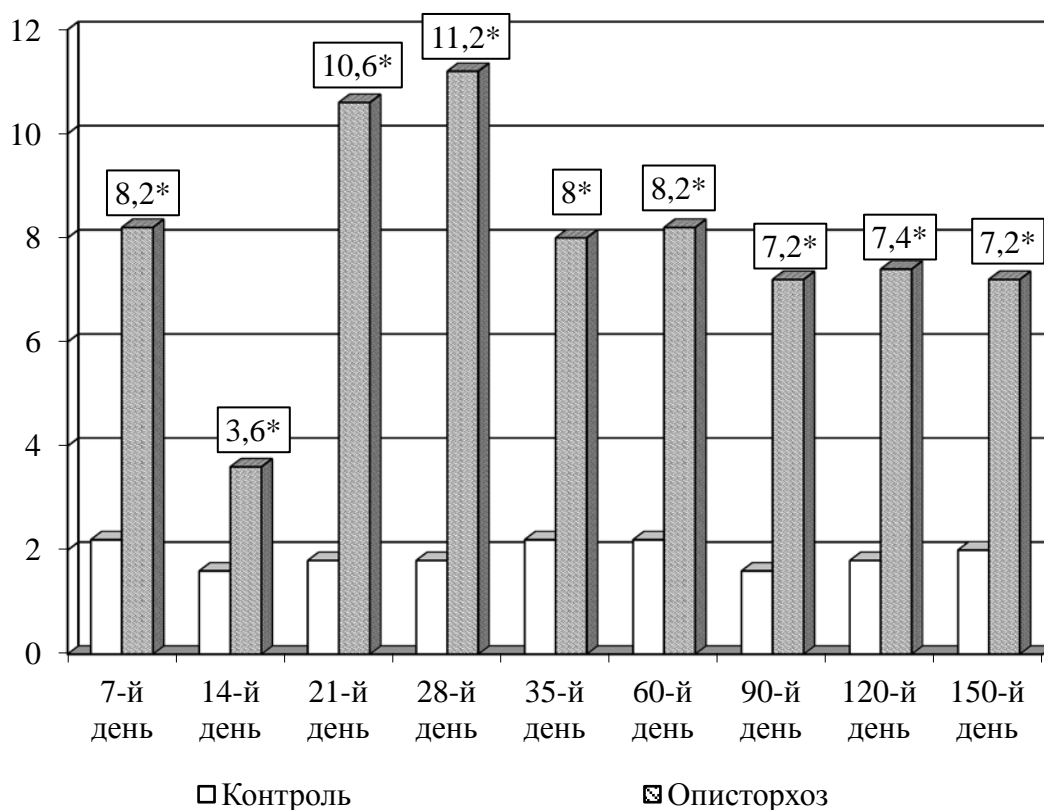


Рис. 3.14 Процент апоптотических клеток печени золотистых хомячков при описторхозе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* - достоверное отличие от данных интактного контроля).

ственно, основной показатель генотоксичности (“момент хвоста”) – в 1,9-14,4 раз, а процент апоптотических клеток в 5,2-24 раза, по сравнению с группой контроля.

В клетках печени “длина хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет” увеличивались в 1,2-2,7 и 1,4-3,6 раза по отношению к контролю (Рис. 3.11 - 3.12). Основной показатель генотоксичности превышал контрольные уровни на всех сроках наблюдения в 1,9-7,1 раза, а цитотоксичности – в 2,3-6,2 раза (Рис. 3.13 - 3.14).

Наиболее выраженные генотоксические эффекты во всех исследуемых типах клеток наблюдались на 7-й, 14-й и 28-й дни наблюдения, а цитотоксический эффект – на 21-й и 28-й дни инвазии. В более поздние сроки наблюдения все исследуемые показатели во всех типах клеток были ниже, чем в ранние сроки, но достоверно превышали контрольные показатели. Исходя из полученных данных, мы предположили, что до 28-го дня у хомячков протекала острая фаза заболевания, которая затем перешла в хроническую. Суммарно

генотоксический и цитотоксический эффекты инвазии кошачьими сосальщиками раньше проявлялись в клетках крови и костного мозга и позднее наблюдались в клетках печени золотистых хомяков.

“Длина хвостов комет” при инвазии достоверно повышалась в среднем в 1,2-2,5 раза в клетках крови на 7-й, 21-й и 28-й дни инвазии, а процент ДНК в “хвостах комет” в 1,8-3,1 раза на 7-й, 14-й, 21-й дни наблюдения. Основной показатель генотоксичности возрастал в 2,7-8,2 раза, а цитотоксичности – в 2,6-8,3 раза. В клетках костного мозга “длина хвостов комет” и процент ДНК в «хвостах комет» возрастали в 1,8-2,9 и 1,9-6,3 раза соответственно, основной показатель генотоксичности (“момент хвоста”) – в 1,9-6,5 раз, а процент апоптотических клеток в 5,3-10,5 раз. В клетках печени “длина хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет” увеличивались в 1,6-2,7 и 1,8-3,6 раза по отношению к контролю. Основной показатель генотоксичности превышал контрольные уровни на всех сроках наблюдения в 3,5-7,1 раза, а цитотоксичности – в 2,3-6,2 раза.

На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что метаболиты марит кошачьего сосальщика обладают генотоксическим воздействием на соматические клетки золотистых хомяков [67, 94]. Генотоксическое воздействие в клетках крови животных наблюдается на 7-й, 14-й, 21-й, 28-й, 35-й, 60-й, 90-й, 120-й и 150-й дни инвазии с максимальной выраженностью в 8,2 раза на 14-й день инвазии. В клетках костного мозга показатель “момента хвоста комет” в 1,9-14,4 раза превышал контрольные величины с максимальной выраженностью на 60-й день инвазии. В печени максимальный генотоксический эффект в 7,1 раза наблюдался на 14-й день инвазии.

В клетках крови, костного мозга и печени животных при экспериментальном описторхозе повышается уровень апоптотических клеток, обусловленный цитотоксическим эффектом инвазии [67, 94]. Цитотоксическое воздействие метаболитов марит кошачьего сосальщика наблюдается на 7-й, 14-й, 21-й, 28-й, 35-й, 60-й, 90-й, 120-й и 150-й дни инвазии в крови с максимальной выраженностью этих изменений на 21-й день в 8,3 раза. В костном мозге максимальная степень апоптоза клеток в 10,5 раз наблюдалась на 14-й и 28-й дни инвазии. Апоптоз клеток печени у зараженных

животных превышал в 2,3-6,2 раза уровни контроля с максимальной выраженностью этих изменений на 28-й день наблюдения.

Нами показано, что инвазия кошачьими сосальщиками у человека сопровождается гено- и цитотоксическим эффектами в лимфоцитах периферической крови пациентов, которые характеризуется ростом количества одноцепочечных разрывов, щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК до 5,16 % и апоптотических клеток до 3,4 % [67, 126].

Гельминты *S. mansoni*, *S. haematobium*, *O. viverrini* и *F. hepatica* индуцируют канцерогенез [292]. Наиболее проблематично для здоровья хозяина то, что мочеполовой шистосомоз приводит к развитию рака мочевого пузыря, а хронический фасциолез и описторхоз достоверно вызывают развитие холангиокарциномы – рака желчных протоков, поэтому они отнесены к 1-ой группе канцерогенов человека [162, 292]. Еще в 1991 году S. Pungrak et al. [268] было показано, что у лиц с клиническими признаками описторхоза уровень опухолевого маркера СА19-9 повышен в 71,4 % случаев, а маркера СА125 – в 28,6 % случаев. В случае подтвержденного диагноза уровень данных маркеров был повышен, соответственно, в 57,1 и 28,6 % случаев [268]. Канцерогенез при описторхозе вызван многими факторами: повышение выработки активных форм кислорода, монооксида азота, механическое повреждение желчных протоков паразитами, воздействие растворимых паразитарных медиаторов, расстройство желчной и кишечной микрофлоры, повышенный уровень апоптоза, вызванный тиоредоксином кошачьих сосальщиков [155, 162, 229, 256, 286, 298].

Изучена способность метаболитов *F. hepatica* вызывать генные мутации в соматических клетках инвазированных млекопитающих [154]. Исследования были проведены на трансгенных мышах-самцах линии C57BL/6 Big Blue®, которых заражали в дозе 2 адолескария печеночного сосальщика на особь. К 15-му дню после заражения был установлен рост генных *lacI* мутаций в гепатоцитах зараженных животных по сравнению с контрольными. У инвазированных мышей в спектре мутаций значительно повышалось число *lacI* спонтанных и многократных мутаций (18,2 %) по сравнению с незараженными животными (2,8 %) [154, 203].

Показано повышение уровня апоптоза лимфоцитов шистосомозных гранулем, клеток селезенки хозяина в острую

стадию шистосомоза Мэнсона [212, 230, 285]. S.K. Lundy et al. [244] изучили апоптоз $CD4^{+}$ Т лимфоцитов в течение шистосомозной инвазии у мышей-самок линии СВА/J^k. Животных заражали в дозе 25 церкариев *S. mansoni* и исследовали ранний апоптоз Т-лимфоцитов селезенки и клеток шистосомозных гранулем. Авторы показали, что апоптоз в селезеночных $CD4^{+}$ Т-лимфоцитах многократно возрастал к 6-ой неделе инвазии и коррелировал с временем попадания яиц в печень. Апоптоз $CD4^{+}$ Т-лимфоцитов селезенки максимально возрастал в острую стадию шистосомоза (8 недель после заражения), снижался в хроническую стадию заболевания (16 недель после заражения). Авторы отметили, что 30 % гранулематозных $CD4^{+}$ Т-лимфоцитов были апоптотическими в течение острого и хронического экспериментального шистосомоза Мэнсона [244]. L. Chen et al. [293] в 2002 г. изучили особенности апоптоза в коже, зараженных абдоминально 250 церкариями *S. mansoni*, мышей линии C57BL/6. Параллельно иммунизировали отдельную группу животных, зараженных 250 живыми церкариями, облученных дозой в 20 000 рентген, и через 2 недели повторно зараженных 250 нормальными церкариями. Установлено присутствие большого числа апоптотических клеток вокруг мигрирующих личинок паразитов и вокруг шистосомул у зараженных и иммунизированных животных. Иммуногистохимический анализ показал, что большинство апоптотических клеток вокруг шистосомул у зараженных и иммунизированных животных являются Т-клетками [293].

3.2.2. Цестоды

В 2004 г. В.Я. Бекишем [30] были выполнены исследования по установлению вероятных ППЯ ДНК клеток костного мозга и семенников мышей линии СВА и формированию в результате генотоксических и цитотоксических эффектов при воздействии метаболитов *H. papua* на соматические и генеративные клетки при применении метода щелочного гель-электрофореза изолированных клеток. Установлено, что метаболиты карликовых цепней обладают генотоксическим воздействием на соматические клетки костного мозга инвазированного хозяина, вызывая увеличение количества одноцепочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной

ДНК *in vivo* [30]. ППЯ ДНК клеток костного мозга хозяина при гименолепидозе были максимально выражены на стадии цистицеркоидов карликового цепня (3-й день). Рост ППЯ ДНК клеток костного мозга зависел от дозы введенного инвазионного материала и кратно достоверно возрастал при ее увеличении. Дозозависимое воздействие четко прослеживалось на изменениях “момента хвоста”. Этот эффект был обнаружен при увеличении дозы заражения с 5 до 20 и до 40 яиц/г на 3-й день наблюдения и с 20 до 40 яиц/г – на 7-й и 21-й дни опыта.

Метаболиты карликовых цепней оказывали и цитотоксическое воздействие, которое характеризовалось ростом апоптотических клеток в костном мозге инвазированных животных с максимальной выраженностью на личиночной стадии развития паразита (3-й день). Цитотоксическое воздействие метаболитов карликовых цепней проявлялось на 3-й день при всех дозах заражения. Оно также наблюдалось на стадии половозрелых паразитов (14-й день), но только при высоких дозах заражения (40 яиц/г). Рост апоптотических клеток в костном мозге мышей при гименолепидозе зависел от дозы введенного инвазионного материала, взятого при заражении. Этот эффект достоверно возрастал при увеличении дозы заражения с 5 до 20 и до 40 яиц/г массы тела животного на 3-й день инвазии в 1,5 - 1,76 раза [30].

Было показано также, что метаболиты карликовых цепней обладают генотоксическим и цитотоксическим воздействиями на генеративные клетки семенников хозяина, вызывая увеличение количества одноцепочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК *in vivo* и рост апоптотических клеток в семенниках [168]. Эти изменения были максимально выражены на личиночной (3-й день) и имагинальной (14-й день) стадиях инвазии. Рост ППЯ ДНК и апоптотических клеток семенников при гименолепидозе зависел от дозы введенного инвазионного материала при заражении и кратно возрастал при ее увеличении. Дозозависимое воздействие метаболитов гименолеписов четко прослеживалось на изменениях “момента хвоста” и процента апоптотических клеток при увеличении дозы заражения с 5 до 20 и до 40 яиц/г на 3 день наблюдения и с 20 до 40 яиц/г – на 7 и 14 дни опыта [30].

У 16 пациентов с гименолепидозом в лимфоцитах периферической крови при применении метода “ДНК-комет” был установлен достоверный рост ППЯ ДНК в 2,47 раза до 4,47 % длины “хвостов комет” в 6 раз до 21,70 пикселя и “момента хвоста комет” в 7,75 раза до 0,93, не было отмечено роста числа апоптотических клеток (Рис. 3.15) [28, 68].

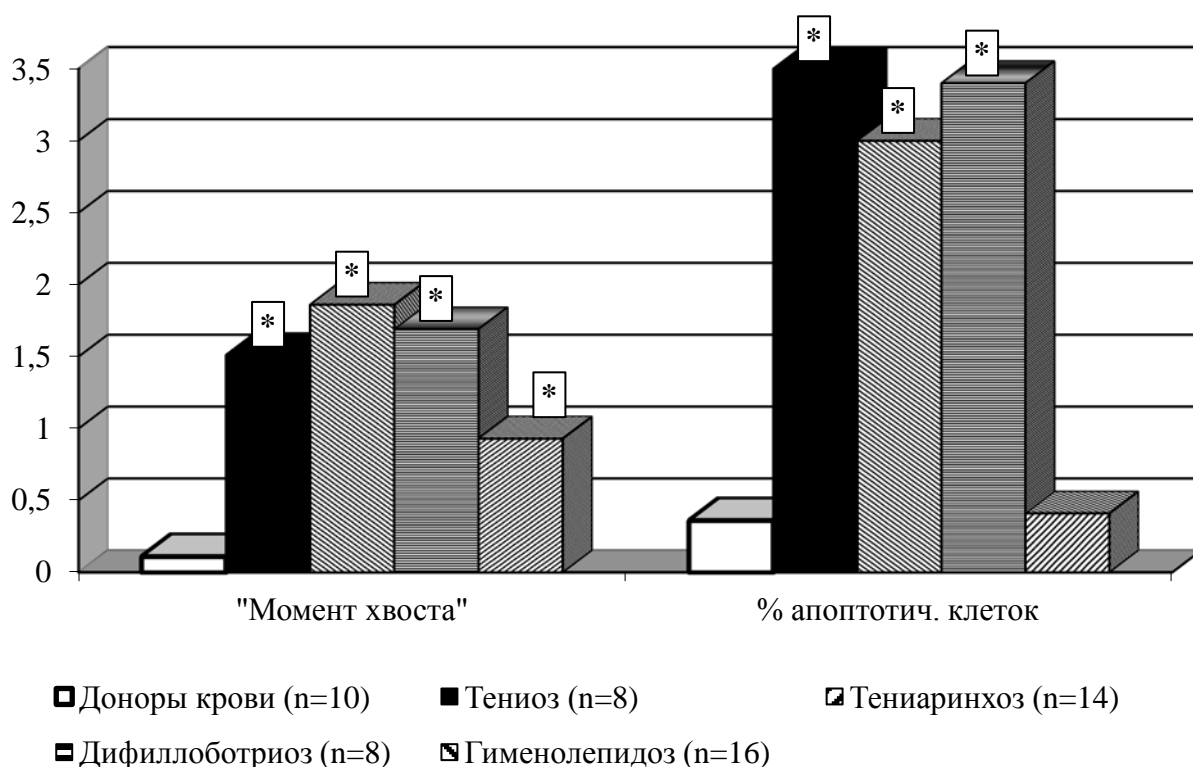


Рис. 3.15 Показатели метода “ДНК-комет” клеток крови пациентов с цестодозами (* – достоверное отличие от показателей контроля при $P < 0,01-0,05$).

Изучение состояния уровней возможных ППЯ ДНК соматических и генеративных клеток хозяина при инвазиях свиным и бычьим цепнями были проведены на 15 золотистых хомяках-самцах, которые были разделены на 3 группы по 5 животных в зависимости от вида возбудителя: первая – контрольная, вторая – инвазия *T. solium* и третья – инвазия *T. saginatus* [16]. Всем опытным и контрольным животным для повышения вероятности приживания и более длительного паразитирования тениид проводили обработку дексаметазоном, который вводили подкожно в дозе 0,4 мг на животное за 2 дня до заражения и далее 2 раза в неделю после

заражения в течение полутора месяцев. Контрольным животным вводили перорально по 1 мл 2 % крахмального геля. Хомяки второй и третьей групп были заражены по 20 цистицерков свиного или бычьего цепней. Цистицерки брали из свежего финнозного мяса животных, полученного с мясокомбинатов. У животных всех групп проводили щелочной гель-электрофорез изолированных клеток костного мозга и семенников на 45-й день от начала опыта. Интенсивность инвазий определяли путем подсчета паразитов в тонком кишечнике.

У зараженных свинными цепнями золотистых хомяков на 45-й день наблюдения “момент хвоста” в клетках костного мозга был выше в 15,7 раз (Рис. 3.16). “Момент хвоста” клеток семенников, проценты апоптотических клеток костного мозга и семенников не отличались от показателей животных негативного контроля (Рис. 3.16 - 3.17). Количество половозрелых паразитов в тонком кишечнике в среднем составило $11,80 \pm 3,03$ экземпляров.

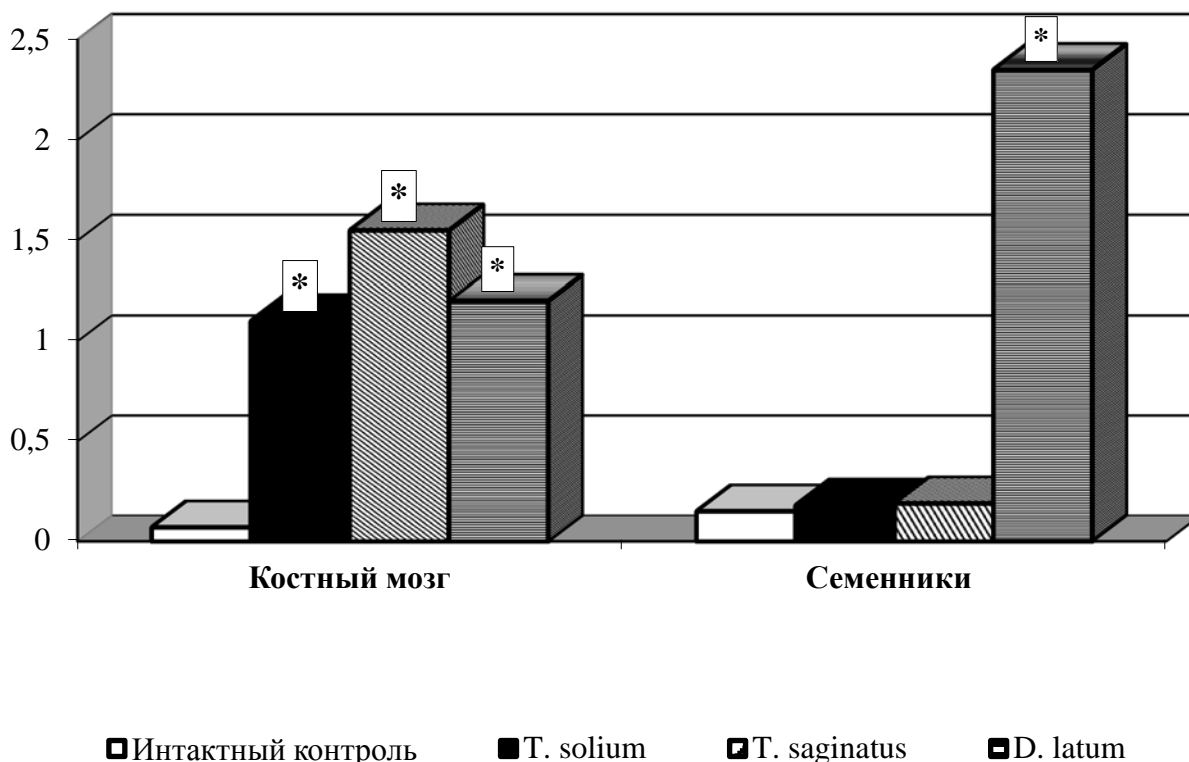


Рис. 3.16 “Момент хвоста” клеток костного мозга и семенников золотистых хомяков при экспериментальных цестодозах (* – достоверное отличие от показателей контроля при $P < 0,01-0,05$).

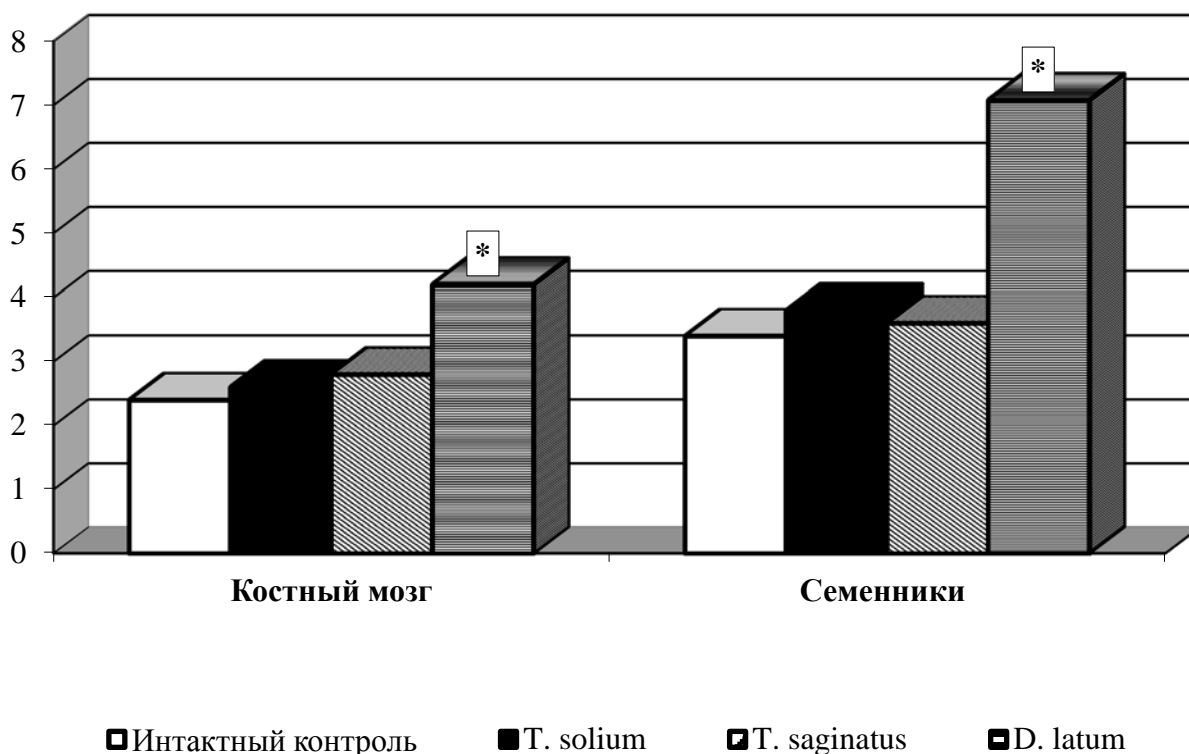


Рис. 3.17 Апоптотические клетки костного мозга и семенников золотистых хомяков при экспериментальных цестодозах (* – достоверное отличие от показателей контроля при $P < 0,01-0,05$).

У зараженных бычьими цепнями золотистых хомяков на 45-й день наблюдения “момент хвоста” в клетках костного мозга был выше в 22,1 раза (Рис. 3.16). “Момент хвоста” клеток семенников и проценты апоптотических клеток костного мозга и семенников не отличались от показателей животных негативного контроля (Рис. 3.16–3.17). Количество половозрелых паразитов в тонком кишечнике в среднем составило $10,2 \pm 1,79$ экземпляров.

При проведении щелочного гель-электрофореза изолированных клеток у инвазированных золотистых хомяков установлено, что метаболиты свиных и бычьих цепней обладают генотоксическим воздействием на соматические клетки инвазированного хозяина, вызывая увеличение количества ППЯ ДНК в клетках костного мозга *in vivo* до 6,36 и 8,03 % соответственно. Однако, метаболиты цестод не вызывали достоверного роста первичных повреждений ДНК клеток семенников, а также не вызывали роста числа апоптотических клеток в костном мозге и семенниках.

У пациентов с тениаринхозом все исследуемые показатели метода “ДНК-комет” достоверно изменялись по отношению к контрольным (Рис. 3.15). Так, показатель процента ППЯ ДНК в “хвостах комет” превысил контрольный уровень в 4,6 раза, а длина “хвостов комет” – в 7,2 раза [62, 68]. Основным показателем генотоксичности – “момент хвоста” лимфоцитов периферической крови в 16,9 раз превышал показатель доноров крови. Процент апоптотических клеток в 8,3 раза был выше контрольного показателя.

При проведении метода “ДНК-комет” во всех исследуемых показателях периферической крови пациентов с тениозом до лечения наблюдались достоверные изменения (Рис. 3.15) [62, 68]. Так, процент ППЯ ДНК в “хвостах комет” превышал показатели доноров крови в 4,6 раза. Длина “хвостов комет” возросла в 5,6 раза. “Момент хвоста” и процент апоптотических клеток пациентов с тениозом до лечения в 13,7 и 9,7 раз соответственно были выше этих показателей у доноров крови.

S. Lopez-Briones et al. [180] изучили способность метаболитов *Taenia crassiceps* вызывать апоптоз клеток селезенки зараженных мышей линии BALB/cAnN. Установлено, что на 30-й день инвазии в клетках селезенки зараженных мышей отмечалось повышение типичной для апоптоза “лестнично-подобной” ДНК - фрагментации и повышение активности фосфатидилсерина. Возрастание уровня апоптоза также было установлено в CD4(+) и CD19(+) спленоцитах инвазированных мышей после их стимуляции с антигеном цистицеркоидов паразита *in vitro* [180].

Возможные генотоксические и цитотоксические эффекты в клетках хозяина при дифиллоботриозе были изучены на 20 золотистых хомяках-самцах массой 45-60 г. [59, 68]. Золотистые хомяки-самцы были разделены на 2 группы по 10 животных. Первая группа была контрольной, вторая – инвазирована *D. latum*. Золотистым хомякам контрольной группы вводили перорально по 1 мл 2 % крахмального геля, второй – заражали по 10 плероцеркоидов широкого лентеца, которых выделяли из мяса инвазированных рыб. Для повышения вероятности приживления и способствованию более длительного паразитирования широких лентецов проводили обработку дексаметазоном, который вводили подкожно в дозе 0,4 мг на животное за 2 дня до заражения и далее 2 раза в неделю после

заражения. У золотистых хомяков обеих групп проводили метод “ДНК-комет” костного мозга и семенников на 20-й день от начала опыта,

У зараженных *D. latum* золотистых хомяков на 20-й день наблюдения в клетках костного мозга длина “хвостов комет” составила $15,34 \pm 2,18$, что достоверно превысило контрольный показатель в 3,7 раза. Процент ДНК в “хвостах комет” и “момент хвоста” в клетках костного мозга были выше в 4 и 13,6 раз соответственно контрольных уровней (Рис. 3.16). Процент апоптотических клеток не отличался от данных интактного контроля (Рис. 3.17). Все показатели генотоксичности и основной показатель цитотоксичности в клетках семенников не отличались от показателей животных негативного контроля. Количество половозрелых паразитов в тонком кишечнике составило $2,8 \pm 0,5$ экземпляров.

Таким образом, было показано, что инвазия широкими лентецами золотистых хомяков сопровождается генотоксическим эффектом в соматических клетках хозяина, который характеризуется ростом количества одноцепочечных разрывов, щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК клеток костного мозга до 7,1 % [59, 68].

Во время исследования периферической крови пациентов до лечения методом “ДНК-комет” было установлено, что все исследуемые показатели достоверно отличались и были выше данных негативного контроля (Рис. 3.15). Так, показатель длины “хвостов комет” достоверно возрос в 5,1 раза [64, 68]. Процент ДНК в “хвостах комет” превысил контрольный показатель в 5 раз. Основной показатель генотоксичности (“момент хвоста”), возрос в 15,4 раза по сравнению с данными доноров крови. Показатель цитотоксичности возрос в сравнении с данными доноров крови в 9,4 раза.

3.2.3. Нематоды

В.Я. Бекишем и А.Д. Дурневым [29] были изучены генотоксические и цитотоксические эффекты метаболитов *T. spiralis* на соматических клетках костного мозга и генеративные клетки семенников мышей линии СВА с применением метода щелочного гель-электрофореза изолированных клеток. Было показано, что метаболиты трихинелл обладают генотоксическим воздействием на соматические клетки инвазированного хозяина, вызывая увеличение

количества одноцепочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК клеток костного мозга *in vivo* [29]. ППЯ ДНК клеток костного мозга хозяина при трихинеллезе зависели от стадии развития паразита. На кишечной стадии инвазии (7-й день) генотоксическое воздействие метаболитов паразитов наблюдалось в костном мозге при среднем (20 лич/г) и тяжелом трихинеллезе (40 лич/г). Максимально выраженное генотоксическое воздействие метаболитов трихинелл на соматические клетки хозяина отмечалось на стадиях миграции (14-й - 21-й дни) и инкапсуляции личинок трихинелл (28-й - 35-й дни). Рост повреждений ядерной молекулы ДНК клеток костного мозга при трихинеллезе зависел от дозы введенного инвазионного материала при заражении и кратно достоверно возрастал при ее увеличении. Рост “момента хвоста” был обнаружен в костном мозге при увеличении дозы заражения с 20 до 40 лич/г на 7, 14, 21, 28-й дни наблюдения.

Совместно с генотоксическим эффектом метаболиты трихинелл проявляли цитотоксическое воздействие на соматические клетки хозяина, которое характеризовалось ростом апоптотических клеток в костном мозге инвазированных животных. Эффект зависел от стадии развития трихинелл. Рост апоптотических клеток костного мозга на кишечной стадии инвазии (7-й день) был отмечен только при тяжелом трихинеллезе. На миграционной стадии (14–21-й дни) цитотоксическое воздействие метаболитов личинок трихинелл проявлялось при всех дозах заражения. Оно также отмечалось и на стадии инкапсуляции паразитов (28-й день). Рост апоптотических клеток в костном мозге мышей при трихинеллезе зависел от дозы введенного инвазионного материала, взятого при заражении, и кратно достоверно возрастал при ее увеличении. При увеличении дозы с 5 до 20 лич/г массы тела животного на 14, 21-й дни в костном мозге наблюдался рост процента апоптотических клеток в 1,3 - 1,9 раза. Дозозависимый цитотоксический эффект метаболитов трихинелл был установлен также при увеличении дозы заражения с 20 до 40 лич/г в костном мозге на 14, 28-й дни инвазии [29].

ППЯ ДНК клеток семенников хозяина при трихинеллезе зависели от стадии развития паразита [29]. Так, на кишечной стадии инвазии (7-й день) генотоксическое воздействие метаболитов трихинелл наблюдалось в семенниках при тяжелом трихинеллезе. Максимально

выраженное генотоксическое воздействие метаболитов трихинелл на генеративные клетки хозяина наблюдалось на стадиях миграции (14–21-й дни) и инкапсуляции личинок трихинелл (28-й день). Рост ППЯ ДНК клеток семенников при экспериментальном трихинеллезе зависел от дозы введенного инвазионного материала при заражении и кратно достоверно возрастал при ее увеличении. Дозозависимое воздействие четко прослеживалось на изменениях “момента хвоста”. Этот эффект был обнаружен при увеличении дозы заражения с 20 до 40 лич/г на 14, 21, 28-й дни наблюдения в семенниках. При увеличении дозы заражения с 5 до 20 и до 40 лич/г на 14-й день инвазии в семенниках наблюдался рост “момента хвоста” в 2,7 и 2,2 раза соответственно.

Метаболиты трихинелл оказывают цитотоксическое воздействие на генеративные клетки хозяина, которое проявлялось ростом апоптотических клеток в семенниках инвазированных животных. Эффект также зависел от стадии развития трихинелл. Рост апоптотических клеток семенников на кишечной стадии инвазии был отмечен только при тяжелом трихинеллезе. На миграционной стадии цитотоксическое воздействие метаболитов личинок трихинелл проявлялось при всех дозах заражения. Оно также отмечалось и на стадии инкапсуляции паразитов (28-й день). Рост апоптотических клеток в семенниках мышей при трихинеллезе зависел от дозы введенного инвазионного материала, взятого при заражении, и кратно достоверно возрастал при ее увеличении. При увеличении дозы с 5 до 20 лич/г массы тела животного на 14-й день в семенниках наблюдался рост “момента хвоста” в 1,3 - 1,9 раза. Дозозависимый цитотоксический эффект метаболитов трихинелл был установлен также при увеличении дозы заражения с 20 до 40 лич/г в семенниках на 14, 21, 28-й дни инвазии.

Метаболиты трихинелл во время их высокой биологической активности обладают генотоксическим и цитотоксическим воздействиями на генеративные ткани хозяина, вызывая рост одноцепочечных разрывов, щелочно-лабильных сайтов ядерной молекулы ДНК, апоптотических клеток в семенниках. Эти изменения зависят от стадий развития паразита, наблюдаются при тяжелом трихинеллезе на кишечной и при легком, среднем и тяжелом – на миграционной стадии [29].

Трихинеллез средней тяжести у человека сопровождается гено- и цитотоксическим эффектами в отношении лимфоцитов периферической крови пациентов, который характеризуется ростом количества поврежденной ядерной ДНК до 9,84 % и апоптотических клеток до 8,15 % [67, 103].

Нами в 2008 г. были изучены возможные генотоксические и цитотоксические эффекты в клетках костного мозга и семенников хозяина при экспериментальном миграционном аскаридозе [14, 66]. Исследование проведено на 140 мышах-самцах линии СВА массой 16-18 г, разделенных на четыре группы по 35 животных в каждой. Мышам 1-й группы (негативный контроль) вводили внутривентрикулярно 0,2 мл 2 % крахмального геля. Животных 2-й группы заражали инвазионными яйцами *A. suum* внутривентрикулярно в дозе 5, 3-ей – 20 и 4-ой группы 40 яиц/г массы тела. Забой контрольных и зараженных животных (по 5 на срок наблюдения) проводили путем декапитации на 3, 7, 14, 21, 28, 60 и 90-й дни от начала инвазии.

“Момент хвоста” и уровни апоптотических клеток костного мозга и семенников зараженных животных сравнивался с показателем негативного контроля, а также для установления дозозависимого эффекта генотоксического и цитотоксического воздействия метаболитов личинок аскарид с данными животных инвазированных в более низких дозах. Данные дозы 20 яиц/г сравнивались с показателем дозы 5 яиц/г, а показатель дозы 40 яиц/г – с величинами дозы 20 яиц/г.

При заражении в дозе 5 яиц/г массы тела животных в костном мозге все исследуемые показатели генотоксичности на 3-й день инвазии не отличались от уровня негативного контроля (Рис. 3.18).

На 7-й день опыта “длина хвостов комет” в 1,7 раза была выше контрольного уровня. Процент ДНК в “хвостах комет” у зараженных животных ($3,86 \pm 0,69$) достоверно в 1,8 раз превысил контрольный показатель. “Момент хвоста” клеток костного мозга инвазированных животных в 1,8 раз был выше контрольного уровня (Рис. 3.18). К 14-му дню опыта процент ДНК в “хвостах комет” ($2,33 \pm 0,36$) у зараженных животных в 1,5 раз был выше контрольного уровня, тогда как “длина хвостов комет” и “момент хвоста” не отличались от показателей контроля. На 21-й, 28-й, 60-й и 90-й дни опыта все

показатели генотоксичности у инвазированных животных не отличались от контрольных.

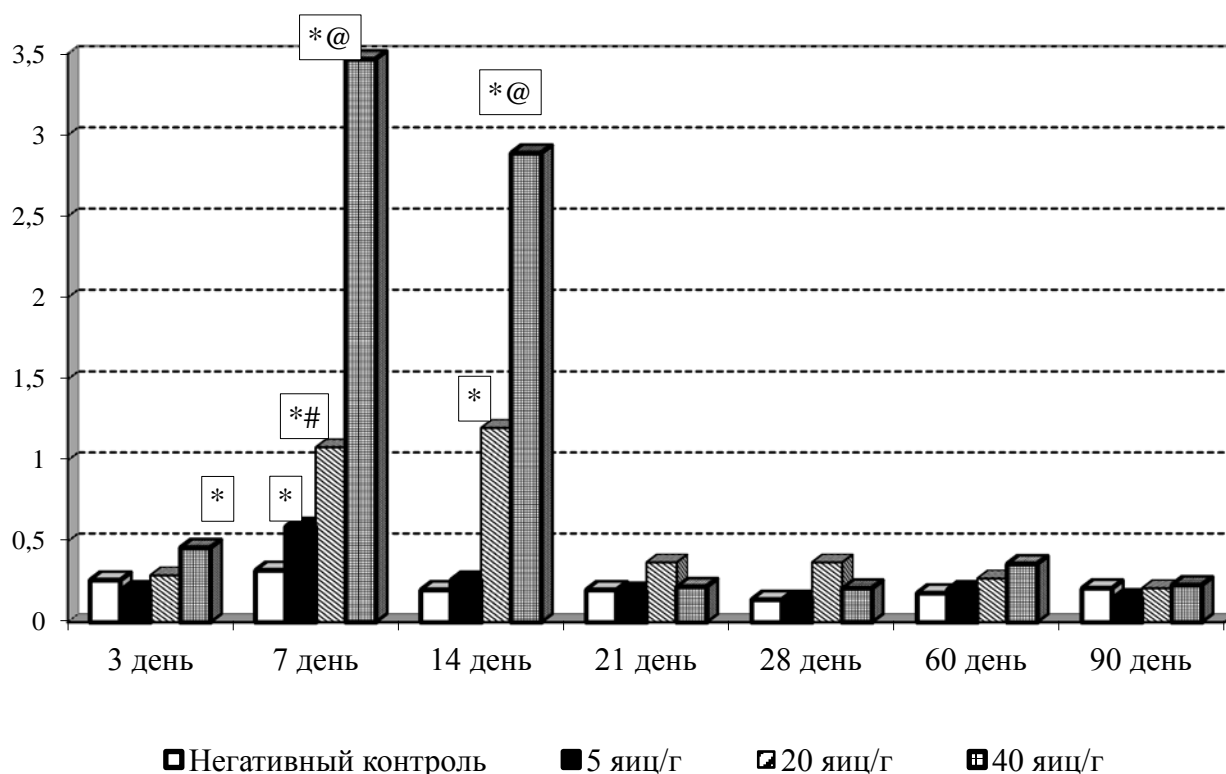


Рис. 3.18. “Момент хвоста” клеток костного мозга мышей-самцов линии СВА при миграционном аскаридозе (* – достоверное отличие от негативного контроля, # – от данных дозы 5 яиц/г, @ – от данных дозы 20 яиц/г при $P < 0,01-0,05$).

У животных, зараженных в дозе 20 яиц/г массы тела, в костном мозге все исследуемые показатели генотоксичности на 3-й день инвазии не отличались от уровня негативного контроля. На 7-й день опыта “длина хвостов комет” клеток костного мозга составила $25,60 \pm 8,85$, что было в 2,9 и в 1,6 раза выше показателей негативного контроля и дозы 5 яиц/г соответственно. Процент ДНК в “хвостах комет” у зараженных животных ($5,80 \pm 1,06$) в 2,6 раза превысил контрольный уровень и в 1,5 раза – данные дозы 5 яиц/г. “Момент хвоста” клеток костного мозга был выше контрольного уровня в 3,4 раза, а также был больше в 1,8 раза, чем при дозе заражения в 5 яиц/г (Рис. 3.18). На 14-й день наблюдения “длина хвостов комет” ($18,14 \pm 5,85$) была в 2 раза выше показателя контроля. “Процент ДНК в хвостах комет” составил $5,75 \pm 2,54$ и в 3,7 раза превысил контрольный показатель, а также в 2,4 раза – данные дозы 5 яиц/г.

“Момент хвоста” клеток костного мозга превысил показатели контроля и дозы 5 яиц/г в 6 и 4,6 раз соответственно. В остальные сроки наблюдения все исследуемые показатели генотоксичности не отличались от контроля.

При увеличении дозы заражения до 40 яиц/г у животных на 3-й день опыта “длина хвостов комет” клеток костного мозга ($12,54 \pm 1,93$) была выше контрольного уровня в 1,4 раза. Процент ДНК в “хвостах комет” составил $3,26 \pm 0,63$ и был выше в 1,4 раза, по сравнению с негативным контролем. “Момент хвоста” превысил в 1,8 раза показатель контроля (Рис. 3.18). На 7-й день инвазии “длина хвостов комет” ($34,60 \pm 8,79$) в 3,9 раза была выше контрольного уровня. Процент ДНК в “хвостах комет” составил $9,81 \pm 2,82$, что было выше показателей контроля и дозы 20 яиц/г в 4,4 и 1,7 раза соответственно. “Момент хвоста” был выше контроля в 10,8 раза и в 3,2 раза превысил данные дозы 20 яиц/г. На 14-й день наблюдения “длина хвостов комет” составила $30,00 \pm 5,39$ и была в 3,3 и 1,6 раза выше контроля и показателя дозы 20 яиц/г соответственно. Процент ДНК в “хвостах комет” ($9,64 \pm 3,51$) превышал контрольный показатель в 6,1 раза. “Момент хвоста” клеток костного мозга был выше контрольного уровня и дозы 20 яиц/г в 14,4 раз и 2,4 раза соответственно. В остальные сроки наблюдения все показатели генотоксичности у инвазированных животных не отличались от контрольных.

При дозе заражения 5 яиц/г массы тела животных в семенниках все исследуемые показатели генотоксичности на 3-й, 7-й, 14-й дни инвазии не отличались от данных негативного контроля (Рис. 3.19). На 21-й день опыта процент ДНК в “хвостах комет” ($9,07 \pm 2,57$) превышал контрольный уровень в 3 раза. “Момент хвоста” был в 3 раза выше контрольного показателя (Рис. 3.19). В последующие дни наблюдения достоверных отличий у зараженных животных по сравнению с контрольными не наблюдалось.

При дозе заражения 20 яиц/г все исследуемые показатели на 3-й и 7-й дни инвазии достоверно не отличались от данных негативного контроля. На 14-й день процент ДНК в “хвостах комет” ($9,84 \pm 2,56$) был выше в 2,3 раза показателя негативного контроля. “Момент хвоста” превышал контрольный показатель в 3 раза (Рис. 3.19). На 21-й день наблюдения процент ДНК в “хвостах комет” в 4,6 раза, а “момент хвоста” в 5,3 раза превысили контрольные показатели.

Процент ДНК в “хвостах комет” и “момент хвоста” в 1,7 и 1,5 раза соответственно превышали показатели дозы 5 яиц/г. В остальные сроки наблюдения данные зараженных животных не отличались от показателей негативного контроля.

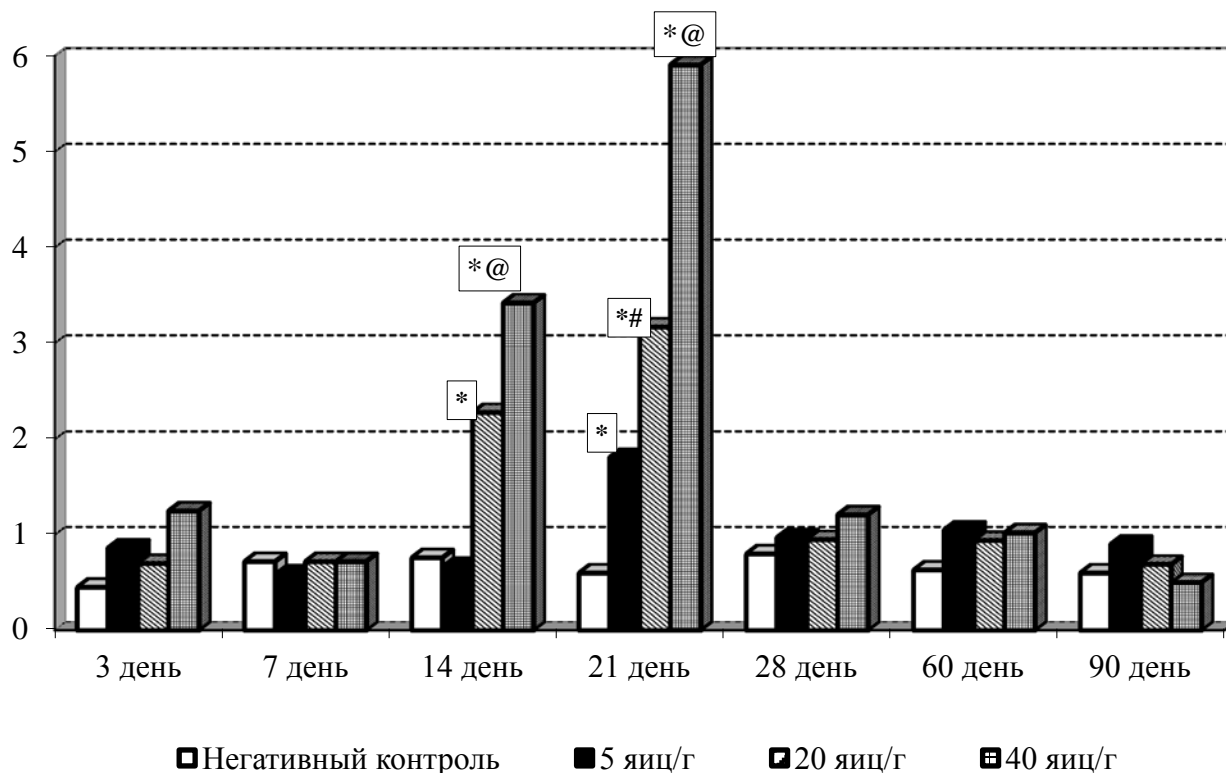


Рис. 3.19. “Момент хвоста” клеток семенников мышей-самцов линии СВА при миграционном аскаридозе (* – достоверное отличие от негативного контроля, @ – от данных дозы 20 яиц/г при $P < 0,01-0,05$).

При увеличении дозы заражения до 40 яиц/г у животных все исследуемые показатели на 3-й и 7-й дни наблюдения не отличались от контрольных. На 14-й день процент ДНК в “хвостах комет” ($11,07 \pm 1,65$) у зараженных животных в 2,5 раза был выше, чем в контроле. “Момент хвоста” был выше в 4,5 и 1,5 раза по сравнению с данными контроля и дозы 20 яиц/г соответственно. На 21-й день “длина хвостов комет” у зараженных мышей ($31,46 \pm 8,50$) в 1,6 раза превышала контрольный уровень. Процент ДНК в “хвостах комет” составил $17,88 \pm 2,61$, что в 6 раз было больше по сравнению с данными контроля и в 1,3 раза – дозы в 20 яиц/г. “Момент хвоста” превышал в 9,8 и 1,8 раза показатели контроля и дозы 20 яиц/г

соответственно. В остальные сроки наблюдения данные зараженных животных не отличались от показателей негативного контроля.

При проведении метода ДНК-комет в клетках костного мозга контрольных животных процент апоптотических клеток варьировал от $0,60 \pm 0,55$ до $1,60 \pm 0,89$ (Рис. 3.20).

У зараженных в дозе 5 яиц/г животных процент апоптотических клеток лишь на 7-й день был в 2,3 раза выше контрольного значения (Рис. 3.20).

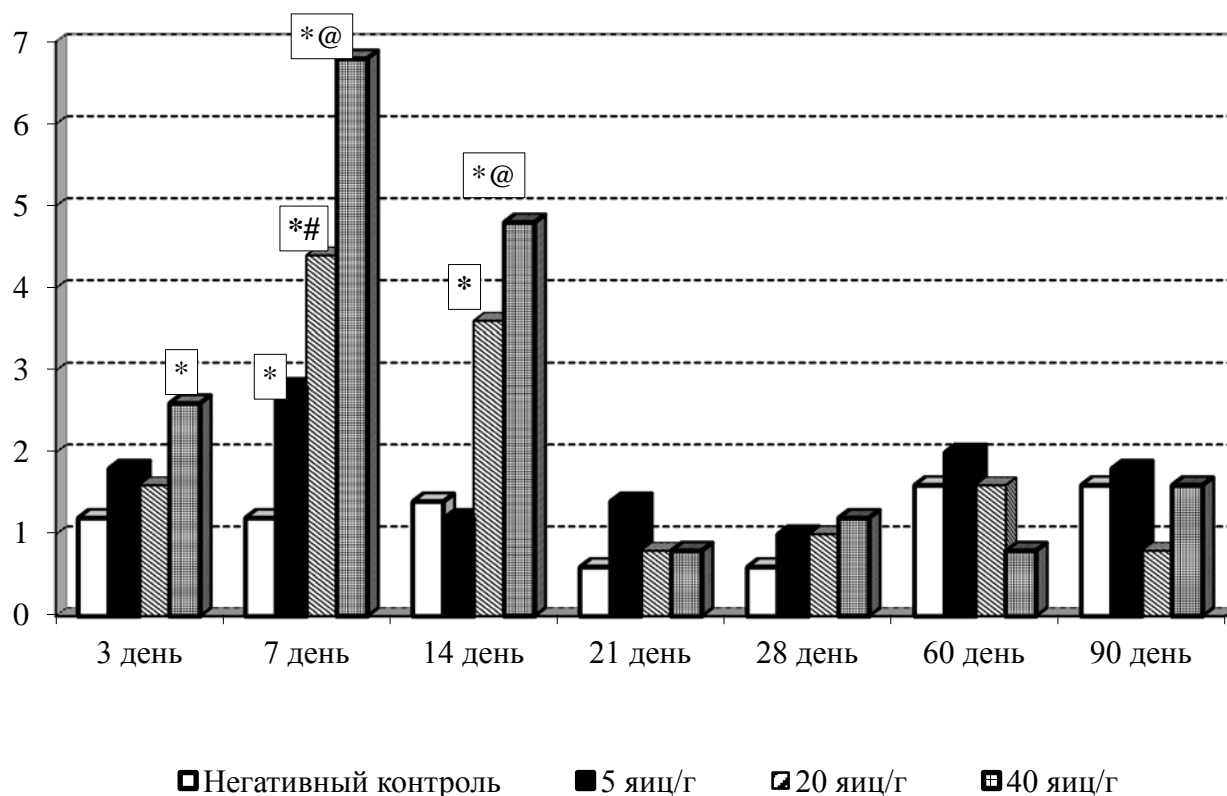


Рис. 3.20. Проценты апоптотических клеток костного мозга мышей-самцов линии СВА при миграционном аскаридозе (* – достоверное отличие от негативного контроля, # – от данных дозы 5 яиц/г, @ – от данных дозы 20 яиц/г при $P < 0,01-0,05$).

При увеличении дозы заражения до 20 яиц/г у животных на 7-й день наблюдения показатель цитотоксичности в 3,6 раза был выше уровня негативного контроля и в 1,6 раза превышал данные дозы 5 яиц/г (Рис. 3.20). На 14-й день опыта процент апоптотических клеток был в 2,6 раза выше уровня негативного контроля. В остальные сроки наблюдения достоверных отличий у зараженных животных по сравнению с контрольными не наблюдалось.

При увеличении дозы заражения до 40 яиц/г на 3-й день наблюдения процент апоптотических клеток был выше данных негативного контроля в 2,2 раза (Рис. 3.20). На 7-й день опыта показатель цитотоксичности у зараженных животных превышал в 5,6 и 1,5 раза данные негативного контроля и дозы 20 яиц/г соответственно. На 14-й день наблюдения у зараженных животных апоптотических клеток в 3,4 раза было больше по сравнению с контрольным показателем и в 1,3 раза – с данными дозы 20 яиц/г. В остальные сроки наблюдения достоверных отличий у зараженных животных по сравнению с контрольными не наблюдалось.

При проведении метода “ДНК-комет” в клетках семенников контрольных животных процент апоптотических клеток варьировал от $3,00 \pm 1,22$ до $11,00 \pm 2,24$ (Рис. 3.21).

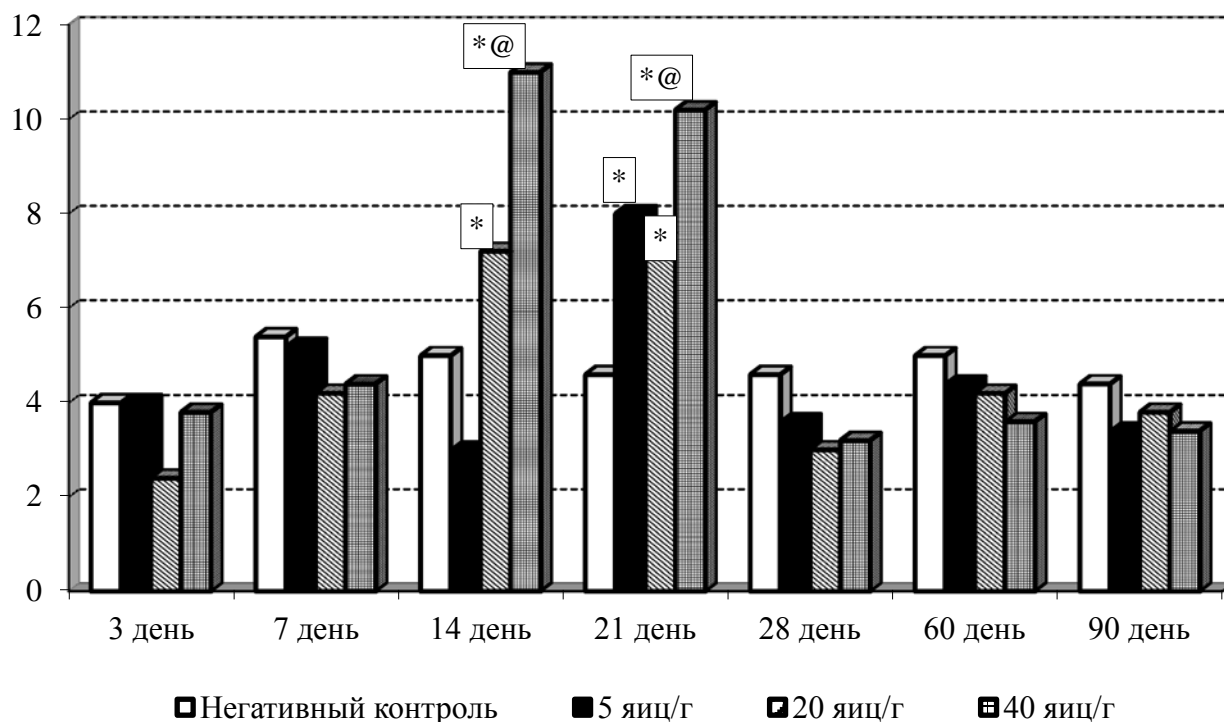


Рис. 3.21. Проценты апоптотических клеток семенников мышей-самцов линии СВА при миграционном аскаридозе (* – достоверное отличие от негативного контроля, @ – от данных дозы 20 яиц/г при $P < 0,01-0,05$).

У зараженных в дозе 5 яиц/г животных только на 21-й день наблюдения процент апоптотических клеток семенников был выше в 1,7 раза по сравнению с негативным контролем (Рис. 3.21).

При увеличении дозы заражения до 20 яиц/г на 14-й день уровень апоптотических клеток в 1,4 раза и на 21-й день – в 1,7 раза были выше контрольного показателя (Рис. 3.21). В остальные сроки наблюдения достоверных изменений не наблюдалось.

При дозе заражения 40 яиц/г на 14-й день показатель цитотоксичности был в 2,2 и 1,5 раза выше по сравнению с уровнями негативного контроля и дозы заражения 20 яиц/г соответственно (Рис. 3.21). На 21-й день процент апоптотических клеток был выше негативного контроля и дозы заражения 20 яиц/г в 2,2 и 1,3 раза соответственно. На 3-й, 28-й, 60-й и 90-й дни опыта показатель цитотоксичности у зараженных животных не отличался от данных контроля.

Установлено, что миграция личинок аскарид сопровождается генотоксическим эффектом как в соматических, так и в генеративных клетках инвазированного хозяина, который характеризуется увеличением количества одноцепочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК в клетках костного мозга и семенников *in vivo*. Рост уровня первичных повреждений ДНК в клетках хозяина был обусловлен повышением числа мелких разрывов ДНК (рост “длины хвостов комет”), процента поврежденной ДНК и основного показателя генотоксичности – “момента хвоста”. “Длина хвостов комет” при инвазии повышалась в среднем в 1,4-3,3 раза в костном мозге и в семенниках только на 21-й день наблюдения при дозе заражения 40 яиц/г в 1,6 раза по сравнению с контролем. Уровень поврежденной ДНК у инвазированных животных в среднем увеличивался на 0,98-8,08 % в костном мозге и на 5,51-14,92 % в семенниках по сравнению с интактными животными. В костном мозге инвазированных животных “момент хвоста” повышался в 1,8-14,4 раз и в семенниках в 3-9,8 раз по отношению к данным негативного контроля. Наиболее выраженные генотоксические эффекты в клетках костного мозга наблюдались в период активной миграции личинок аскарид в тканях хозяина (3 - 14 дни инвазии). В семенниках животных при инвазии рост генотоксических повреждений наблюдался с 14-го по 21-й дни опыта. Это можно связать с тем, что жизненный цикл клеток сперматогенеза длительный и время развития от стволовых сперматогоний до сперматозоидов составляет более 42-х дней. Поэтому рост

повреждений ДНК клеток семенников наблюдается с некоторым опозданием по отношению к изменениям в костном мозге.

Генотоксическое влияние аскаридозной инвазии на клетки хозяина зависит от дозы введенного инвазионного материала при заражении и кратно достоверно возрастает при ее увеличении. Дозозависимое воздействие четко прослеживалось на росте “момента хвоста” клеток костного мозга в 1,8 - 4,6 раза при увеличении дозы заражения с 5 до 20 и до 40 яиц/г на 7-й и 14-й дни наблюдения. Повышение “момента хвоста” наблюдалось также в семенниках инвазированных мышей в 1,6-1,8 раза при увеличении дозы заражения на 14-й и 21-й дни опыта.

Личинки аскарид во время миграции обладают цитотоксическим воздействием, которое характеризовалось ростом процента апоптотических соматических и генеративных клеток инвазированных животных. Цитотоксический эффект в костном мозге инвазированных животных наблюдался с 3-го по 14-й день и в семенниках с 14-го по 21-й дни инвазии.

Цитотоксическое воздействие метаболитов личинок аскарид во время инвазии зависело от дозы заражения. При увеличении дозы заражения с 5 до 20 яиц аскарид на 1 г массы тела животного на 7-й день в костном мозге наблюдался рост апоптоза в 1,6 раза. Дозозависимый цитотоксический эффект метаболитов личинок аскарид (рост процента апоптотических клеток в 1,3-1,5 раза) был установлен также при увеличении дозы заражения с 20 до 40 яиц/г в костном мозге на 7-й, 14-й дни и в семенниках на 14-й, 21-й дни инвазии.

На основании проведенных исследований было возможно сделать следующие выводы, что метаболиты мигрирующих личинок аскарид обладают генотоксическим воздействием на соматические и генеративные клетки хозяина, вызывая рост одноцепочечных разрывов, щелочно-лабильных сайтов ядерной молекулы ДНК на 0,98-8,08 % в костном мозге и на 5,51-14,92 % в семенниках инвазированных животных. Генотоксическое воздействие в клетках костного мозга наблюдается в период миграции паразитов в тканях хозяина (3-14 дни инвазии), в семенниках на 14-й и 21-й дни после заражения и возрастает в 1,6-4,6 раза при увеличении дозы введенного инвазионного материала при заражении. В клетках

костного мозга и семенников животных при миграционном аскаридозе повышается уровень апоптотических клеток, обусловленный цитотоксическим эффектом инвазии. Цитотоксическое воздействие миграции личинок аскарид наблюдается на 3-й, 7-й, 14-й дни инвазии в костном мозге и на 14-й, 21-й дни – в семенниках хозяина и возрастает в 1,3-1,6 раза при увеличении дозы введенного инвазионного материала при заражении [14, 66].

У пациентов с кишечным аскаридозом “длина хвостов комет” лимфоцитов периферической крови составила $25,67 \pm 1,98$ пикселей и была достоверно выше контрольного уровня в 2,1 раза [66, 137]. Процент ДНК в “хвостах комет” составил $4,34 \pm 1,32$ и был выше в 4,42 раза, по сравнению с негативным контролем. “Момент хвоста” превысил в 16,45 раза показатель контроля. Процент апоптотических клеток крови был выше в 7,22 раза по сравнению с негативным контролем (Рис. 3.22).

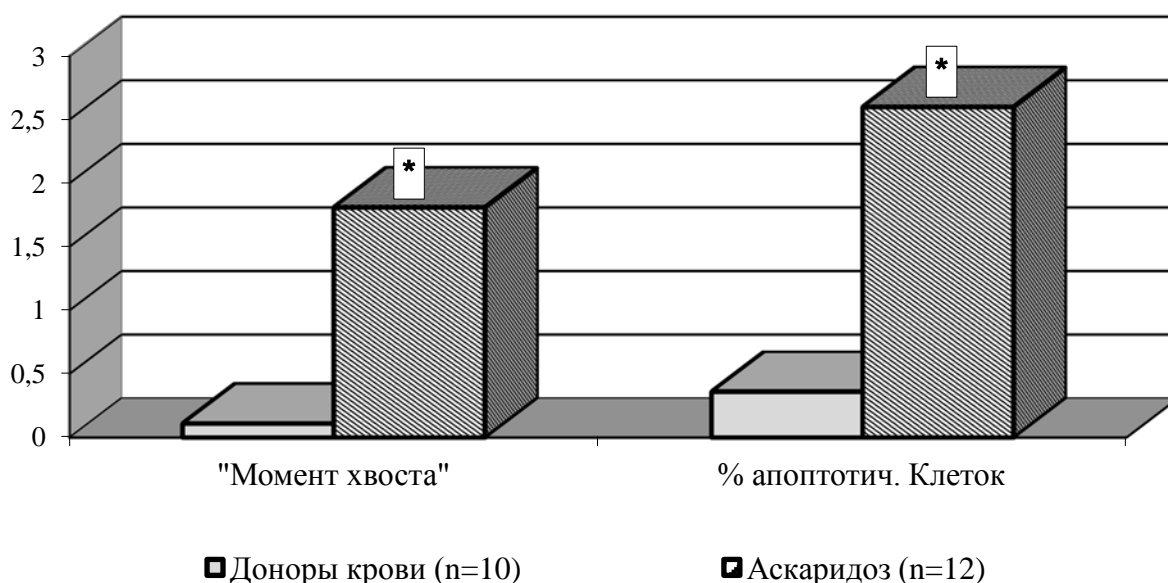


Рис. 3.22. Показатели метода “ДНК-комет” лимфоцитов пациентов с аскаридозом (* – достоверное отличие от данных доноров крови при $P < 0,01-0,05$).

Для изучения изменений уровней первичных повреждений ДНК, апоптоза в соматических и генеративных клетках хозяина при экспериментальном висцеральном токсокарозе было использовано

140 мышей-самцов линии СВА, разделенных на четыре группы по 35 животных в каждой [15, 66]. Мышам 1-ой группы (негативный контроль) вводили per os 0,2 мл 2 % крахмального геля, животных 2-ой – заражали инвазионными яйцами *T. canis* внутрижелудочно в дозе 5, 3-ей – 20 и 4-ой группы 40 яиц/г массы тела. Забой контрольных и зараженных животных (по 5 на срок наблюдения) проводили путем декапитации на 3, 7, 14, 21, 28, 60 и 90-й дни от начала инвазии. У мышей выделяли бедренные кости, семенники и получали из них клеточные суспензии костного мозга и клеток сперматогенеза для щелочного гель-электрофореза изолированных клеток.

У зараженных в дозе 5 яиц/г мышей 2-ой группы только на 14-й день инвазии “момент хвоста” клеток костного мозга был выше в 4,6 раза, чем у животных негативного контроля (Рис. 3.23). В остальные сроки наблюдения исследуемые показатели инвазированных животных не отличались от данных незараженных животных.

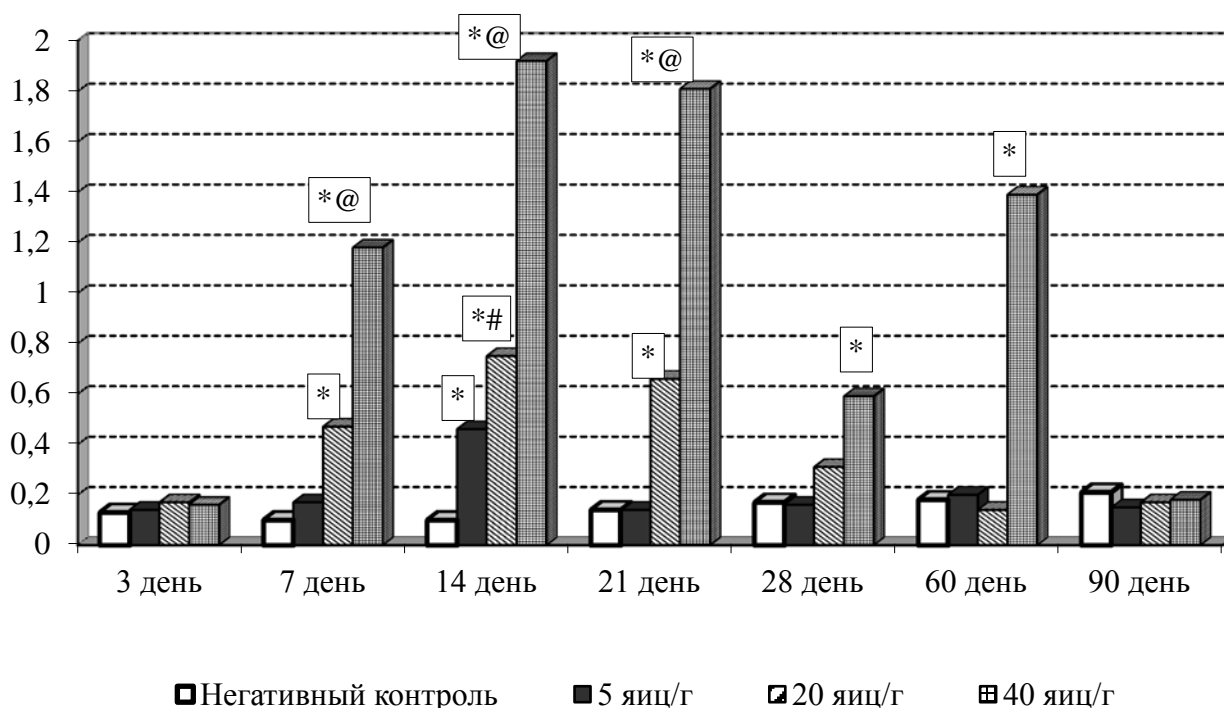


Рис. 3.23 “Момент хвоста” клеток костного мозга мышей-самцов линии СВА при висцеральном токсокарозе (* – достоверное отличие от негативного контроля, # – от данных дозы 5 яиц/г, @ - от данных дозы 20 яиц/г при $P < 0,01-0,05$).

При увеличении дозы заражения до 20 яиц/г “момент хвоста” клеток костного мозга инвазированных токсокарами животных на 7-й день наблюдения в 4,7 раза превышал уровень контроля. К 14-му дню опыта “момент хвоста” был выше показателей негативного контроля и данных инвазированных животных 2-ой группы в 7,5 и 1,6 раза соответственно. Процент апоптотических клеток в 1,5 раза превышал уровень негативного контроля. На 21-й день наблюдения “момент хвоста” был выше в 4,7 раза показателей интактного контроля, а процент апоптотических клеток достоверно не отличался от контрольного уровня. На 28, 60 и 90-й дни опыта исследуемые показатели у зараженных животных не отличались от данных негативного контроля.

У зараженных в дозе 40 яиц/г массы тела мышей “момент хвоста” клеток костного мозга к 7-му дню инвазии был выше в 4,7 раза по сравнению с негативным контролем и в 2,5 раза превышал этот показатель при дозе 20 яиц/г. На 14-й день наблюдения “момент хвоста” был выше в 7,5 раз по сравнению с интактным контролем и в 2,56 раза – с этим показателем 3-ой группы. Процент апоптотических клеток в 1,8 раза превышал уровень негативного контроля. К 21-му дню опыта “момент хвоста” был больше в 12,9 и 2,7 раза соответственно по сравнению с данными негативного контроля и животных, зараженных в дозе 20 яиц/г. “Момент хвоста” на 28-й и 60-й дни наблюдения был больше в 3,5 и 7,7 раза соответственно по сравнению с незараженными мышами, а процент апоптотических клеток достоверно не превышал уровень негативного контроля. На 90-й день опыта исследуемые показатели у зараженных животных не отличались от данных негативного контроля.

У мышей, зараженных в дозе 5 яиц/г массы тела, в клетках семенников все исследуемые показатели не отличались от данных негативного контроля на протяжении всех сроков наблюдения (Рис. 3.24).

В клетках семенников мышей 3-ой группы (доза заражения 20 яиц/г) на 14-й день опыта наблюдалось повышение “момента хвоста” и процента апоптотических клеток в 1,9 и 1,6 раза соответственно по сравнению с негативным контролем. К 21-му дню “момент хвоста” клеток семенников зараженных животных был выше в 1,6 раза, чем у интактных мышей. На 60-й день в клетках инвазированных животных

“момент хвоста” был выше в 1,7 раза, чем в негативном контроле, а процент апоптотических клеток достоверно не отличался от контрольного уровня. На 28-й и 90-й дни опыта исследуемые показатели у зараженных животных не отличались от данных контроля.

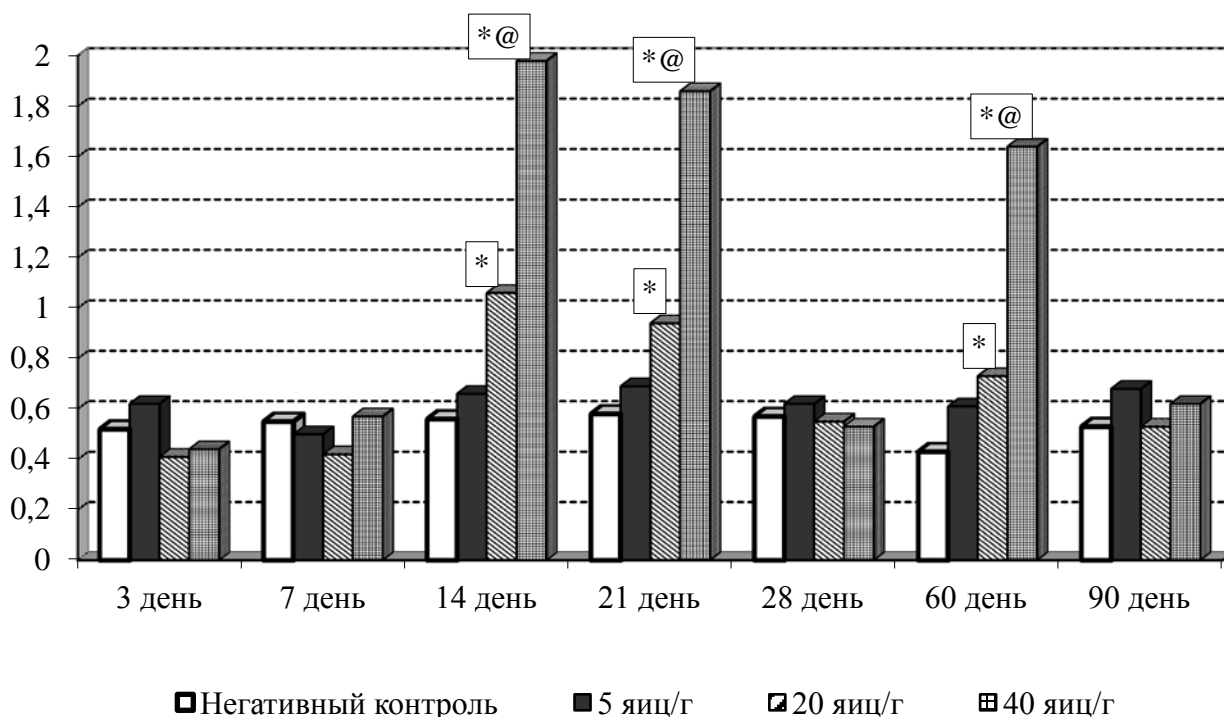


Рис. 3.24. “Момент хвоста” клеток семенников мышей-самцов линии СВА при висцеральном токсокарозе (* – достоверное отличие от негативного контроля, @ – от данных дозы 20 яиц/г при $P < 0,01-0,05$).

У мышей 4-ой группы (доза заражения 40 яиц/г) на 14-й день опыта наблюдалось повышение “момента хвоста” в 3,5 раза по сравнению с интактным контролем и в 1,9 раза – с аналогичным показателем при дозе 20 яиц/г. Процент апоптотических клеток был выше в 1,4 раза по отношению к негативному контролю. К 21-му дню у животных, зараженных в дозе 40 яиц/г, “момент хвоста” был выше в 3,2 раза по отношению к данным интактных мышей и превышал в 2 раза показатель дозы 20 яиц/г. К 60-му дню “момент хвоста” клеток семенников у животных 4-ой группы был выше в 3,8 раза величин негативного контроля и в 2,2 раза превышал аналогичный показатель мышей 3-ой группы. Процент апоптотических клеток достоверно не отличался от контрольного уровня. На 28-й и 90-й дни опыта

исследуемые показатели у зараженных животных не отличались от данных негативного контроля.

У пациентов с висцеральным токсокарозом “длина хвостов комет” лимфоцитов периферической крови составила $23,67 \pm 2,12$ пикселей и была достоверно выше контрольного уровня в 6,5 раз [38, 66]. Процент ДНК в “хвостах комет” составил $6,98 \pm 1,46$ и был выше в 4,56 раза, по сравнению с негативным контролем (Рис. 3.25).

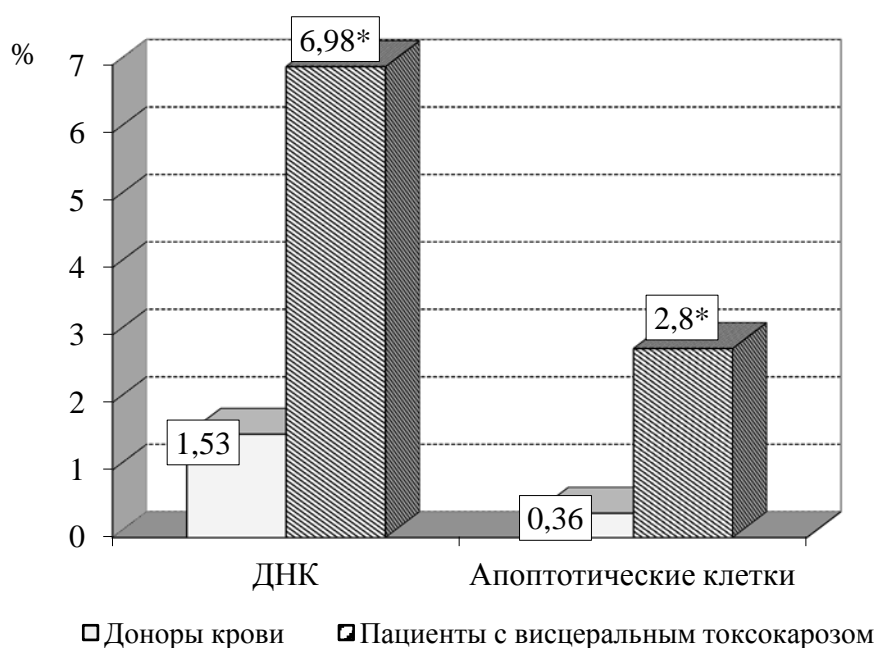


Рис. 3.25. Проценты поврежденной ДНК и апоптотических клеток в крови пациентов с висцеральным токсокарозом (* – достоверное отличие от данных доноров крови при $P < 0,01-0,05$).

“Момент хвоста” превысил в 12,75 раза показатель контроля. Процент апоптотических клеток крови был выше в 7,8 раза по сравнению с негативным контролем (Рис. 3.25).

Изменения уровней ППЯ ДНК, апоптоза в соматических клетках хозяина при экспериментальном трихоцефалезе было проведено на 60 золотистых хомяках массой 40-80 г., которых разделяли на две группы (контрольная и опытная) с одинаковым количеством животных [67, 88]. Контрольной группе вводили внутривенно стерильный 0,9 % раствор хлорида натрия в объеме 0,5 мл. Опытной группе животных вводили внутривенно инвазионные яйца *T. muris* из расчета 20 на 1 г массы тела по методу, предложенному А.В. Степановым и О.-Я.Л. Бекишем [40, 141]. Инвазионный материал был

предоставлен Всероссийским научно-исследовательским институтом фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И. Скрябина. Яйца власоглавок для поддержания лабораторного штамма получали седиментационным центрифужным методом из фекалий животных по Фюллеборну с последующей инкубацией в чашках Петри во влажной среде при температуре 30⁰ С в течение 30 дней. Обследование животных на зараженность власоглавами проводили методом нативного мазка, начиная с 30 дня после заражения. С целью установления реальной интенсивности инвазии и расчета приживаемости паразитов, проводили вскрытие хомяков и подсчет числа гельминтов в толстом кишечнике зараженных власоглавами животных на 30 и 40 дни инвазии.

Исследования проводили на 10-е, 20-е, 30-е, 40-е, 60-е и 80-е дни от заражения. На все сроки наблюдения хомяков умерщвляли путем декапитации под эфирным наркозом. Выделяли бедренные кости. Забор периферической крови из сонной артерии производили при помощи вакутайнеров.

Полученные методом “ДНК-комет” результаты при экспериментальном трихоцефалезе в клетках крови контрольных и опытных групп представлены на рисунках 3.26 - 3.23.

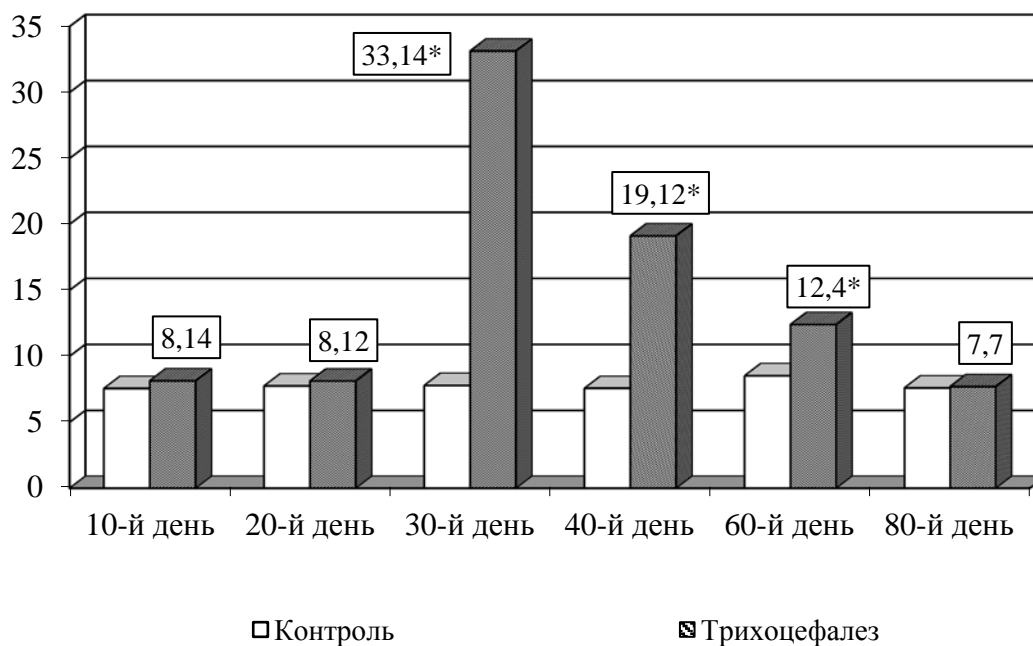


Рис. 3.26. “Длина хвостов комет” (в пикселях) клеток крови золотистых хомяков при трихоцефалезе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* – достоверное отличие от данных интактного контроля).

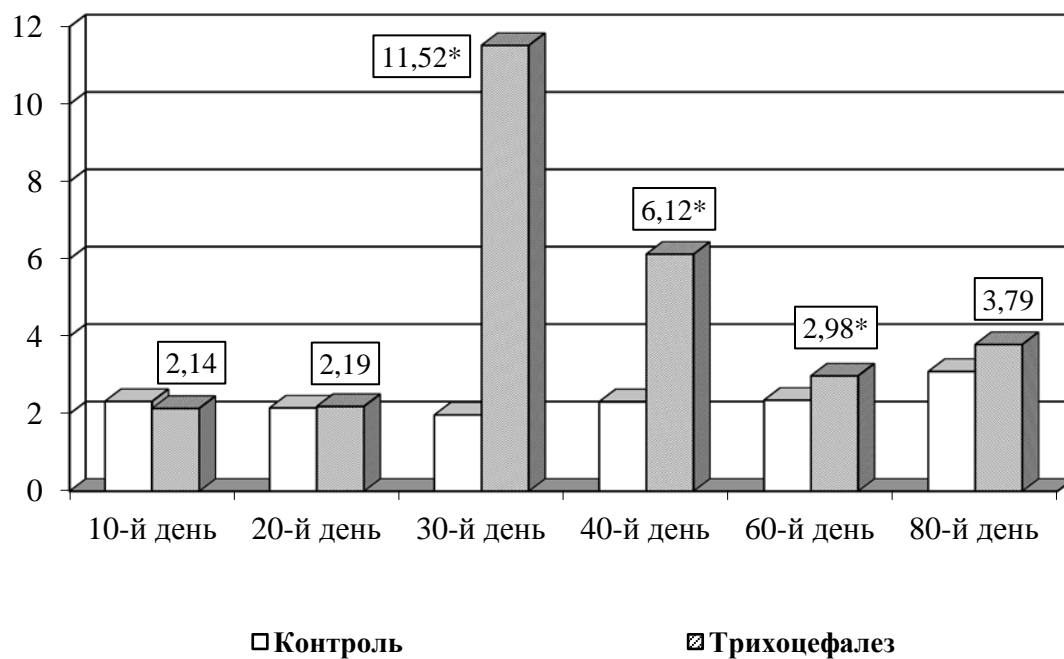


Рис. 3.27. Процент ППЯ ДНК клеток крови золотистых хомяков при трихоцефалезе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* – достоверное отличие от данных интактного контроля).

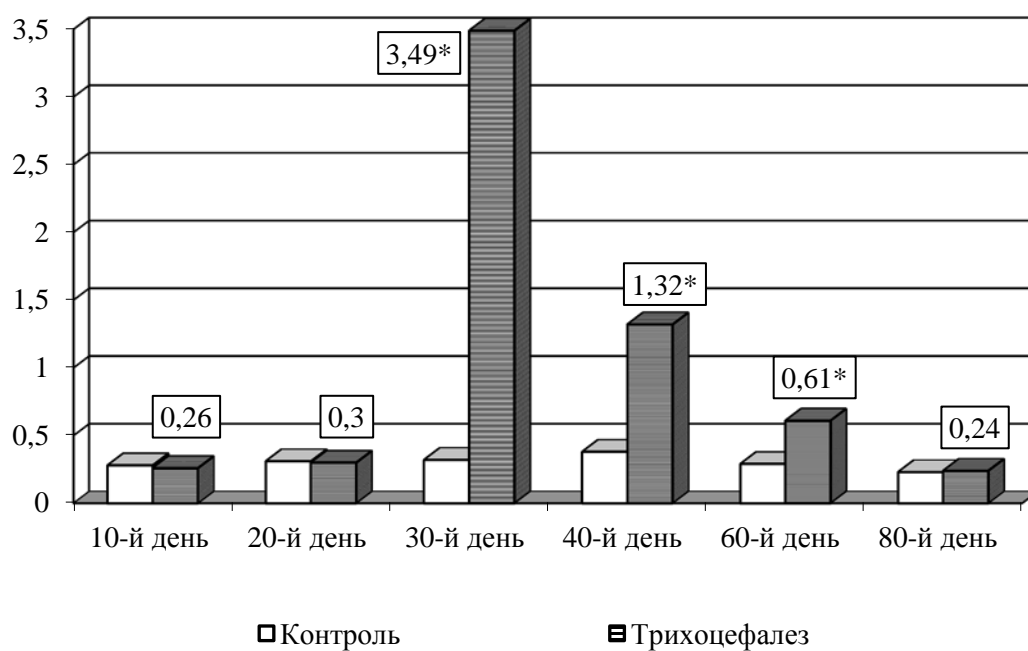


Рис. 3.28. “Момент хвоста” клеток крови золотистых хомяков при трихоцефалезе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* – достоверное отличие от данных интактного контроля).

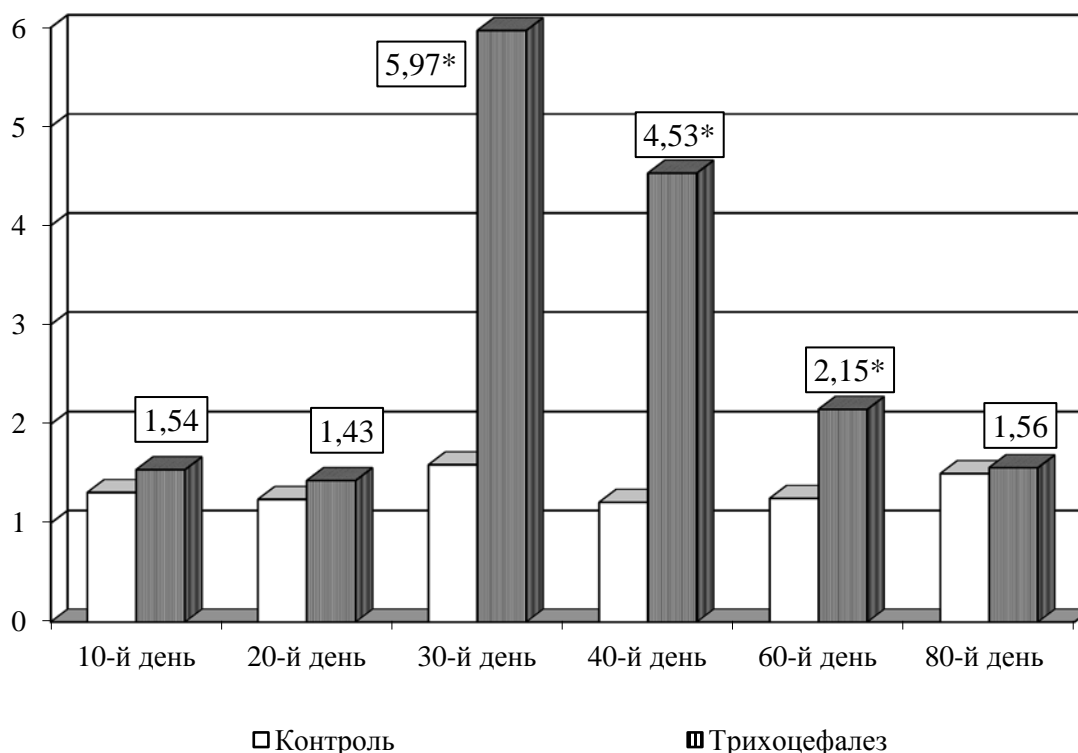


Рис. 3.29. Процент апоптотических клеток крови золотистых хомячков при трихоцефалезе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* – достоверное отличие от данных интактного контроля).

При проведении исследований на 10-й и 20-й дни инвазии в клетках крови золотистых хомячков все исследуемые показатели генотоксичности и цитотоксичности не отличались от уровня интактного контроля.

На 30-й день опыта “длина хвостов комет” в 4,25 раза была выше контрольного уровня. Процент ДНК в “хвостах комет” у зараженных животных ($11,52 \pm 4,01$) достоверно, в 5,8 раз превысил контрольный показатель. “Момент хвоста” клеток крови инвазированных животных в 10,9 раз превысил контрольный уровень, а процент апоптотических клеток был в 3,8 раза выше контрольного значения.

К 40-му дню опыта процент ДНК в “хвостах комет” ($19,12 \pm 5,54$) у зараженных животных в 2,5 раз был выше контрольного уровня, тогда как “длина хвостов комет” и “момент хвоста” – в 2,6 и 3,5 раз соответственно. Процент апоптотических клеток в 3,7 раза превысил контрольное значение.

На 60-й день опыта “длина хвостов комет” в 1,45 раза была выше контрольного уровня. Процент ДНК в “хвостах комет” у зараженных

животных достоверно в 1,3 раз превысил контрольный показатель. “Момент хвоста” клеток крови и процент апоптотических клеток инвазированных животных были в 2,1 и 1,7 раза выше контрольного уровня.

На 80-й день инвазии в клетках крови золотистых хомяков все исследуемые показатели генотоксичности и цитотоксичности не отличались от уровня интактного контроля.

При проведении метода “ДНК - комет” в костном мозге, у зараженных животных все исследуемые показатели генотоксичности и цитотоксичности на 10-й и 20-й дни инвазии не отличались от уровней интактного контроля (Рис. 3.30 - 3.33).

На 30-й день опыта “длина хвостов комет” клеток костного мозга составила $36,18 \pm 5,91$ пикселей, что было в 4,63 раза выше показателей контроля. Процент ДНК в “хвостах комет” у зараженных животных ($12,72 \pm 3,76$) в 5,2 раза превысил контрольный уровень. “Момент хвоста” клеток костного мозга был выше контрольного значения в 10,35 раза больше. Процент апоптотических клеток достоверно превысил контроль в 4,3 раза.

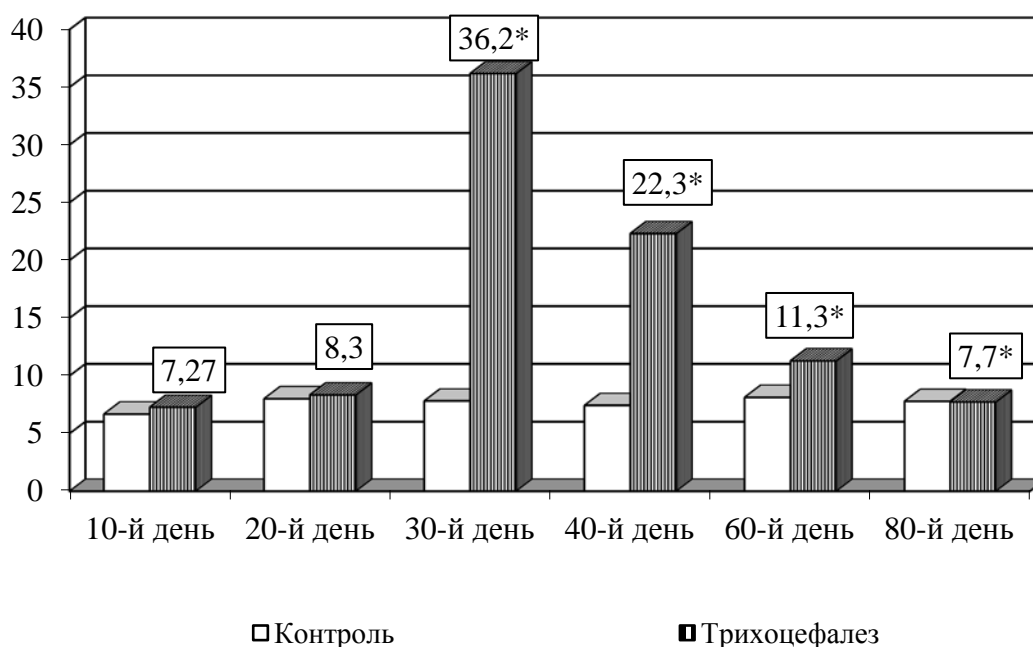


Рис. 3.30. “Длина хвостов комет” (в пикселях) клеток костного мозга золотистых хомяков при трихоцефалезе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* – достоверное отличие от данных интактного контроля).

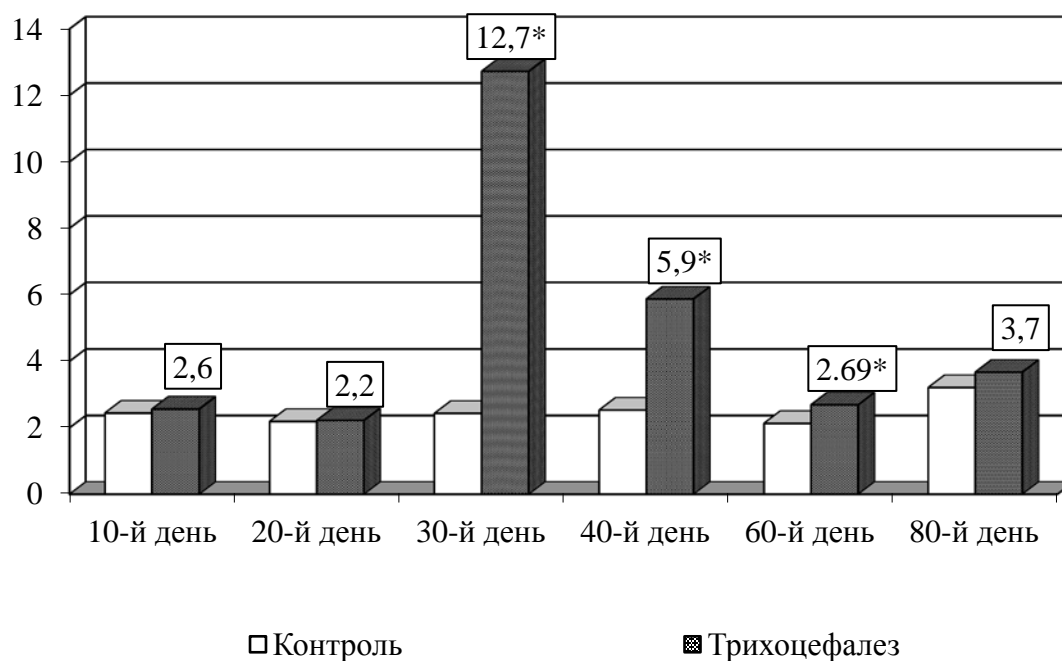


Рис. 3.31. Процент ППЯ ДНК клеток костного мозга золотистых хомячков при трихоцефалезе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* – достоверное отличие от данных интактного контроля).

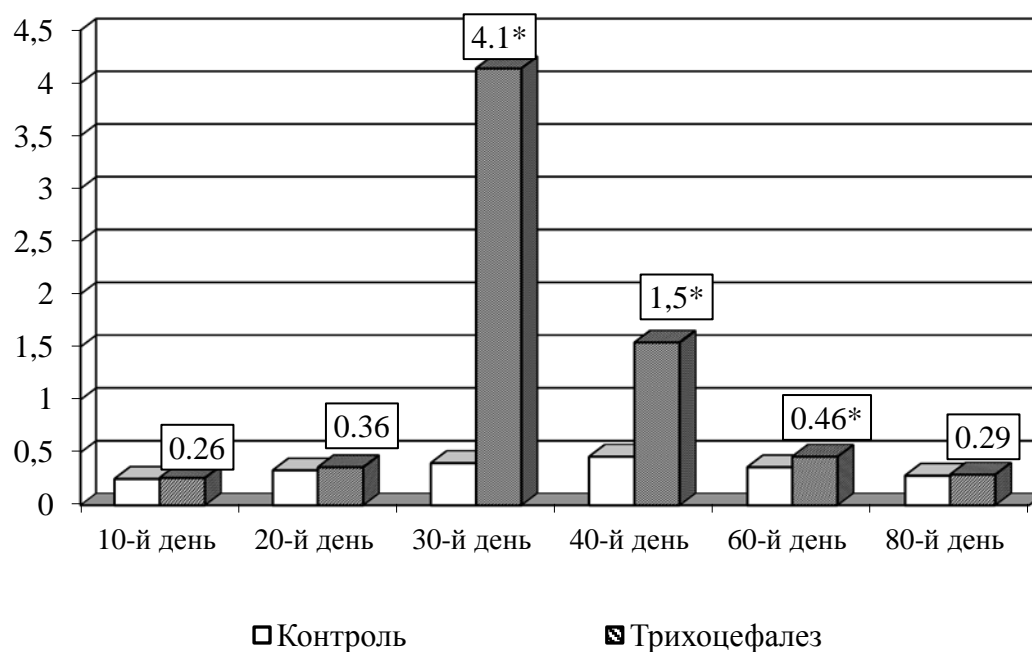


Рис. 3.32. “Момент хвоста” клеток костного мозга золотистых хомячков при трихоцефалезе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* – достоверное отличие от данных интактного контроля).

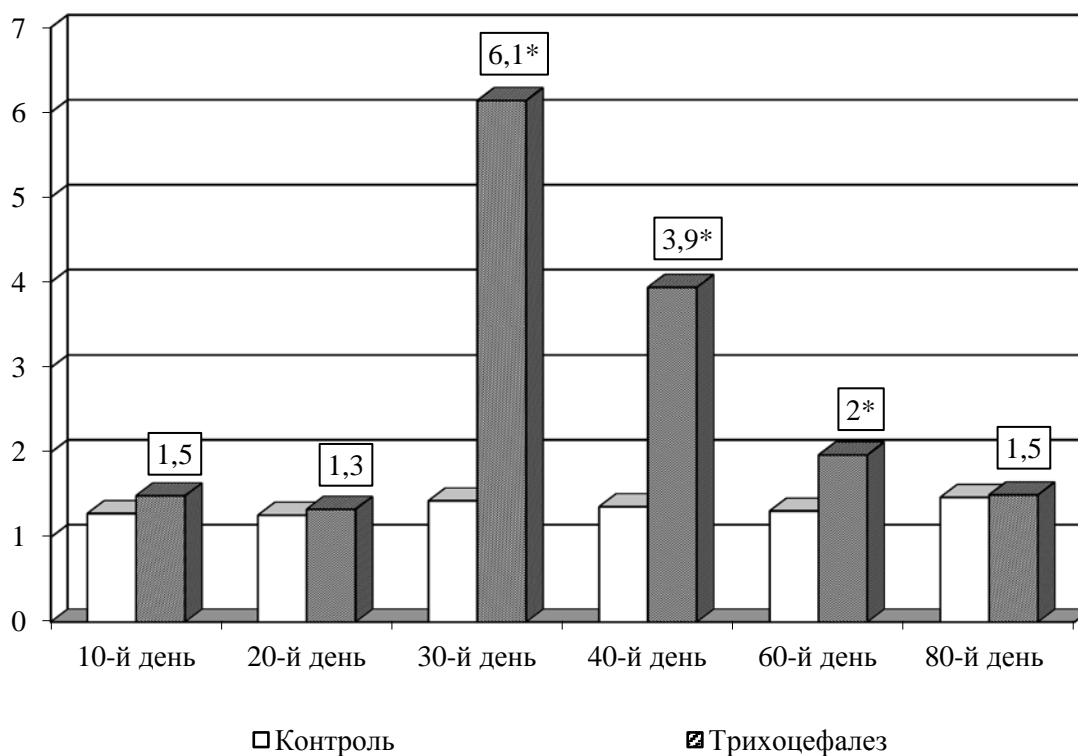


Рис. 3.33. Процент апоптотических клеток костного мозга золотистых хомяков при трихоцефалезе в зависимости от срока наблюдения после заражения (* – достоверное отличие от данных интактного контроля).

На 40-й день наблюдения “длина хвостов комет” ($22,31 \pm 4,68$) была в 3 раза выше показателя контроля. Процент ДНК в “хвостах комет” составил $5,87 \pm 0,78$, что в 2,3 раза превысил контрольный показатель. “Момент хвоста” клеток костного мозга превысил показатели контроля в 3,3 раза. Основной показатель цитотоксичности возрос в 2,9 раз по сравнению с данными интактного контроля.

При исследовании на 60-й день наблюдения, “длина хвостов комет” клеток костного мозга ($11,29 \pm 2,31$) была выше контрольного уровня в 1,4 раза. Процент ДНК в “хвостах комет” составил $2,69 \pm 0,32$, что в 1,3 раза выше по сравнению с данными интактного контроля. “Момент хвоста” превысил в 1,3 раза показатель контроля, а процент апоптотических клеток – в 1,5 раза был выше контрольного уровня.

На 80-й день наблюдения все показатели генотоксичности и цитотоксичности у инвазированных животных не отличались от контрольных данных.

Таким образом, было показано, что метаболиты власоглавов обладают генотоксическим воздействием на соматические клетки золотистых хомяков с 30 по 60 дни инвазии с максимальным ростом процента поврежденной ДНК клеток крови и костного мозга в 10,35 раз на 30-й день после заражения [67, 88]. В клетках крови и костного мозга животных при экспериментальном трихоцефалезе повышается уровень апоптотических клеток на 30-й, 40-й, 60-й дни инвазии с максимальной выраженностью (в 4,3 раза) на 30-й день после заражения.

Установлено, что трихоцефалез у человека сопровождаются генотоксическим и цитотоксическим эффектами в лимфоцитах периферической крови пациентов, которые характеризуются ростом количества ППЯ ДНК до 5,04 % и числа апоптотических клеток до 3,2 % [32, 67].

Известно, что метаболиты микрофилярий *Brugia pahangi* в процессе инвазии вызывали повышение уровня апоптоза в CD4⁺ Т-лимфоцитах периферической крови инвазированных мышей [228].

* * *

Генотоксическое и цитотоксическое воздействия метаболитов гельминтов на клетки млекопитающих в процессе инвазии методом “ДНК-комет” изучены при трематодозах (описторхоз), цестодозах (гименолепидоз, тениидозы, дифиллоботриоз) и нематодозах (трихинеллез, аскаридоз, висцеральный токсокароз, трихоцефалез). При анализе полученных результатов нами были взяты данные наибольших уровней ППЯ ДНК и апоптоза клеток хозяина при экспериментальных гельминтозах средней степени тяжести (доза заражения не более 20 яиц или личинок на 1 г. массы тела).

Характеризуя достоверные результаты экспериментальных гельминтозов и инвазий у человека можно отметить следующие общие закономерности (Рис. 3.34 - 3.35):

– у мышевидных и хомяковых грызунов при гельминтозах в соматических клетках (крови, костного мозга, печени) повреждается $7,21 \pm 2,17$ % ДНК (максимально при трихинеллезе – 8,09 %, минимально при висцеральном токсокарозе – 4,91 %), в клетках периферической крови человека уровень ППЯ ДНК достигает

6,50±1,86 % (максимально при трихинеллезе – 9,84 %, минимально при кишечном аскаридозе – 4,34 %);

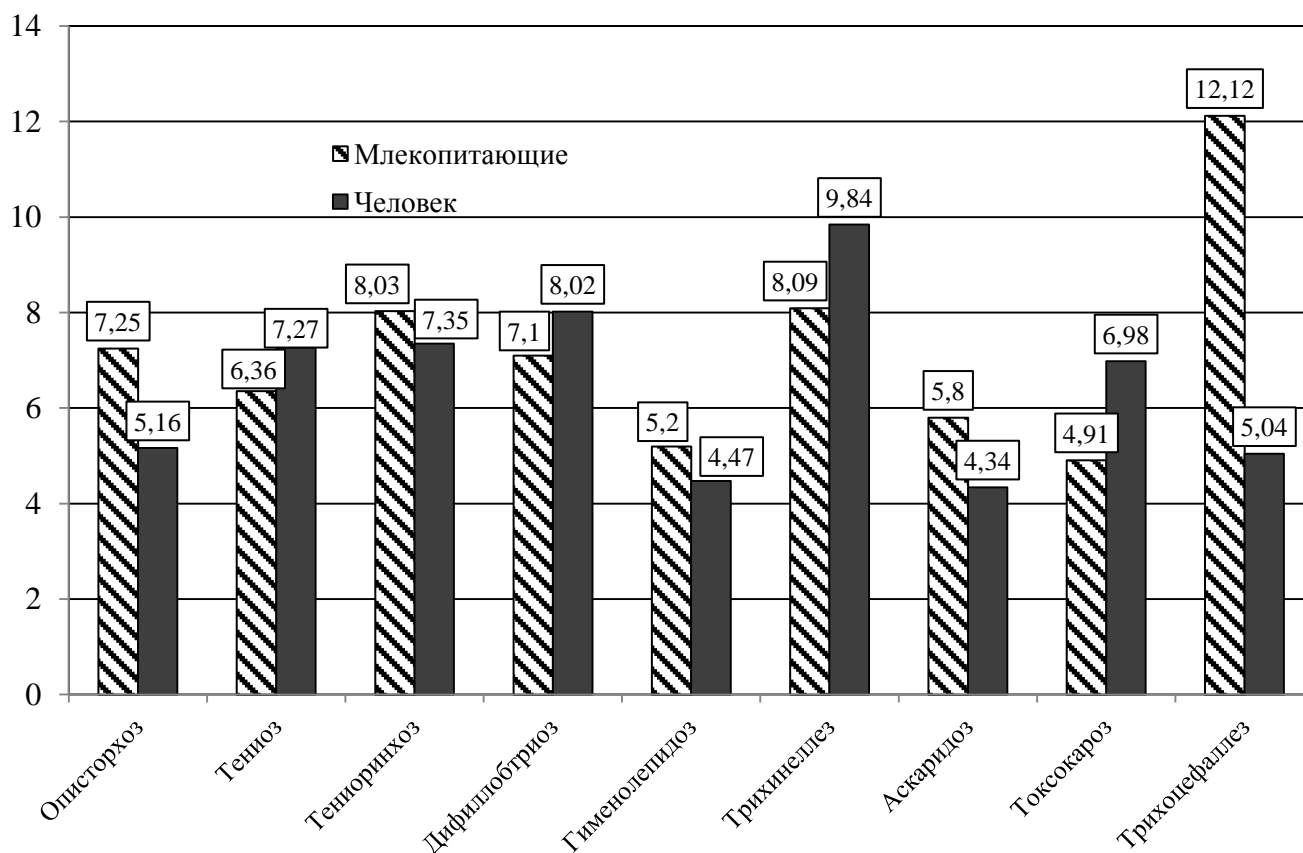


Рис. 3.34. Уровни ППЯ ДНК соматических клеток млекопитающих и человека при гельминтозах.

– уровни ППЯ ДНК соматических клеток у мышевидных, хомяковых грызунов и человека достоверно не отличаются друг от друга ($P>0,05$);

– средний уровень апоптотических клеток периферической крови при гельминтозах человека составляет $3,78\pm1,8$ % (максимально при трихинеллезе – 8,15 %, минимально при кишечном аскаридозе – 2,6 %) и достоверно не отличается от контрольного уровня только при гименолепидозе.

Среди специфических закономерностей следует отметить следующие (Рис. 3.34 - 3.35):

– у мышевидных и хомяковых грызунов при гельминтозах в генеративных клетках (семенники) повреждается $10,30\pm2,55$ % ДНК (максимально при миграционном аскаридозе – 13,76 %, минимально при гименолепидозе – 8,16 %); а также генотоксическое воздействие

гельминтов на генеративные клетки животных полностью отсутствует при тениидозах и дифиллоботриозе;

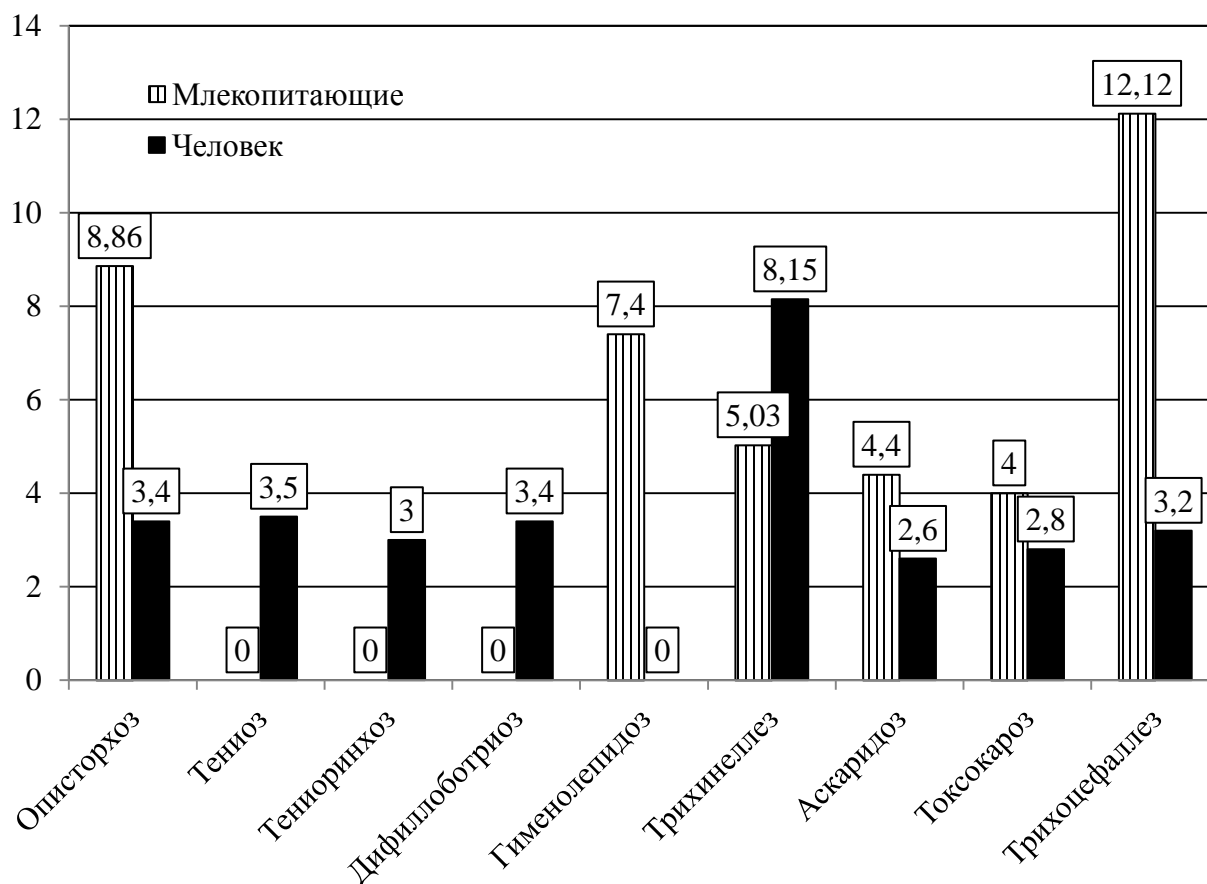


Рис. 3.35. Уровни апоптоза соматических клеток млекопитающих и человека при гельминтозах.

– у мышевидных и хомяковых грызунов при гельминтозах в соматических клетках (крови, костного мозга, печени) уровень апоптоза достигает $6,00 \pm 1,85$ % (максимально при описторхозе – 8,86 %, минимально при висцеральном токсокарозе – 4,00 %), в генеративных клетках (семенники) – $10,63 \pm 2,04$ % (максимально при трихинеллез – 12 %, минимально при миграционном аскаридозе – 7,60 %), а также цитотоксическое воздействие гельминтов на клетки животных полностью отсутствует при тениидозах и дифиллоботриозе.

ГЛАВА 4.

ВОЗДЕЙСТВИЕ ПАРАЗИТОВ И ПРОДУКТОВ ИХ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ НА ОРГАНИЗМ ХОЗЯИНА ДО И ПОСЛЕ НАСТУПЛЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

По мнению В.П. Сергиева и М.А. Пальцева [133] в результате межвидовой борьбы паразитов и их хозяев возможно развитие различных патологических состояний у последних. Схематически негативные воздействия, оказываемые паразитом на организм хозяев, условно можно разделить на три большие группы:

- ухудшение состояния здоровья разной степени, вплоть до гибели хозяина;
- угнетение репродуктивной функции и сокращение воспроизводства хозяина;
- изменение нормальных поведенческих реакций хозяина.

4.1. Влияние паразитов на протекание и исход беременности хозяина

Этиология врожденных пороков плода не устанавливается более чем в 25 % случаев, в большинстве случаев не удается выявить ведущий средовой фактор в группе пороков мультифакториального происхождения [145]. В Республике Беларусь ежегодно рождается свыше 3500 детей с наследственной и врожденной патологиями [97]. Возбудители паразитарных заболеваний у млекопитающих и человека в период беременности могут влиять на развитие плода и вызывать внутриматочное заражение эмбриона, проникая через плаценту [259]. Одним из малоизученных эмбриотоксических и тератогенных факторов биологической природы относят паразитов и выделяемых ими секреторно-экскреторно-соматических продуктов жизнедеятельности. Проблема воздействия паразитов на организм женщины при беременности представляет большой интерес для современных паразитологов в связи с широким распространением инвазионных заболеваний в мире.

Среди паразитов, влияющих на протекание беременности, рассматривают простейших и гельминтов.

В современной литературе широко обсуждается вопрос о воздействии на эмбрион (плод) во время беременности хозяина возбудителей четырех протозойных инвазий – малярии, токсоплазмоза, америкаканского трипаносомоза и неоспороза.

Малярия у беременных женщин неблагоприятно воздействует на плод, что приводит к снижению его веса при рождении, увеличению риска преждевременных родов и развитию анемии у матери [258, 272]. На эндемичных по малярии территориях ежегодно около 100 000 детей погибают внутриутробно или имеют низкую массу при рождении от матерей больных малярией [219]. Возбудитель малярии может проникнуть трансплацентарно в плод человека в любой срок беременности [257]. Клиническая картина малярии в период беременности зависит от иммунного статуса матери. Первородящие наиболее восприимчивы к инвазии, у них часто развивается анемия, которая приводит к их смерти во время беременности [274]. Врожденная малярия у плода развивается в присутствии материнских иммуноглобулинов и гемоглобина плода, но неизвестно, как внутриутробное заражение в дальнейшем воздействует на иммунную систему новорожденного [274]. У женщин, инвазированных возбудителем тропической малярии, с конца первого триместра беременности наблюдается четкое повышение паразитемии, симптомов заболевания и анемии по отношению к небеременным, а у 17,7 % новорожденных отмечается снижение массы тела и их трансплацентарное инфицирование [182, 261]. По мнению P. Voeuf et al. [262], тропическая малярия сопровождается массивной инфильтрацией плаценты моноцитами и пигментными отложениями у беременных женщин, что приводит к гипоксии плода и нарушению его обеспечения питательными веществами. При обследовании 30 797 беременных женщин Северной Танзании в 17 % случаев выявлялась малярия, в 0,7 % – амебиаз и в 0,6 % – геогельминтозы и в 29-33 % случаев паразитарные заболевания сопровождались нарушением развития плода и анемией [248]. С целью профилактики передачи малярии трансплацентарно и повышению иммунитета у беременных женщин рекомендуют назначать витамин А и цинк [302]. При экспериментальной малярии показано, что низкий вес плода, их гибель и предрасположенность к малярии обусловлен секвестрацией паразита, развитием воспаления, ростом апоптоза и нарушением

баланса выработки IL-17 и IL-10 в плаценте беременных самок мышей [194, 243, 247].

Токсоплазмоз широко распространен среди животных и человека во всем мире. Наиболее часто заболевание встречается в странах Европы и больше всего во Франции (55 %) [273]. Человек заражается токсоплазмами при употреблении в пищу сырого или плохо термически обработанного мяса, а также продуктов питания и сырой воды, загрязненных ооцистами паразита [178, 197]. Ежегодно токсоплазмозом инфицируется около 1 % населения земного шара [250]. Серопораженность токсоплазмозом у женщин репродуктивного периода варьирует в мире от 4 до 100 %. В странах Европы, Азии, Австралии и Америки первичное заражение *Toxoplasma gondii* во время беременности наблюдается до 310 случаев на 10000 беременностей [278]. В Турции серопораженность токсоплазмозом у женщин репродуктивного возраста находится в пределах от 19,2 до 85 %, а врожденный токсоплазмоз у детей наблюдается в 0,1 % случаев [260]. У каждой третьей беременной женщины в Турции в первом триместре определяются специфические антитоксоплазмозные иммуноглобулины G [205]. Показатели инфицированности токсоплазмами в различных регионах России колеблются от 15 до 30 %, а частота врождённого токсоплазмоза составляет 1–8 случаев на 1000 новорожденных [53]. В настоящее время рекомендуют проводить раннюю диагностику врожденного токсоплазмоза путем изучения уровней гамма-интерферона методом ELISA [199].

В Республике Беларусь в последние годы токсоплазмоз серологически определяется у беременных женщин и новорожденных в 22,4 - 26,8 % случаев, ежегодно трем-пяти новорожденным выставляется диагноз врожденного токсоплазмоза с летальным исходом. При анализе результатов аутопсий в Минском городском патологоанатомическом бюро за 2002–2005 гг. морфологически было выявлено 29 случаев токсоплазмоза (3,07 % среди инфекционных болезней) [102].

Хронический токсоплазмоз представляет большую угрозу для беременных женщин, так как трансплацентарное инфицирование может привести к преждевременным родам, гибели плода, развитию глухоты, слепоты, отставанию психофизического развития,

церебральным параличам, микрофтальмией, гидроцефалией, микроцефалией, микрогирией, ложной порэнцефалией [6]. При инфицировании беременной в первом триместре возможно самопроизвольное прерывание беременности [58]. Вероятность инфицирования плода составляет не более 15 %, но тяжесть неврологических дефектов и риск возникновения хориоретинитов у плода выше, если инфекция возникла у женщины в первом триместре беременности. У инфицированных новорожденных врожденный токсоплазмоз часто проявляется в виде генерализованного поражения всего организма [107]. Поражения эмбриона в фетальном периоде могут формироваться в результате предшествующих альтернативно-пролиферативных изменений, наблюдающихся преимущественно в коре больших полушарий, мягкой мозговой оболочке и сетчатке глаз [58].

Приобретенный токсоплазмоз у детей имеет неспецифические клинические признаки [151]. Лимфонулярная форма острого токсоплазмоза проявляется длительным субфебрилитетом, лимфаденопатией, гепатоспленомегалией без поражения ЦНС. Глазная форма острого токсоплазмоза манифестирует в виде хориоретинита, длительного субфебрилитета и признаков органического поражения ЦНС. Хронический токсоплазмоз имеет клинические признаки в виде длительного субфебрилитета, лимфаденопатии, которые сопровождаются астеновегетативным синдромом.

В настоящее время показано, что лечение инвазированной матери не влияет на передачу заболевания плоду и незначительно воздействует на клинические проявления у новорожденного. Поскольку лечение врожденного токсоплазмоза не изменялось на протяжении последних 55 лет, необходима разработка новых эффективных лекарственных препаратов.

Neospora caninum – облигатный внутриклеточный паразит, который вызывает выкидыши у крупного рогатого скота, овец во всем мире [195, 303]. Показано, что трансплацентарная передача *N. caninum* приводит к возникновению ранних аборт у крупного рогатого скота, гибели эмбрионов или к их врожденному заражению [281, 196]. Человек не заражается неоспорозом, но эта инвазия встречается у приматов [281]. При экспериментальном неоспорозе

овец было установлено, что чем раньше произошло заражение беременной самки, тем больше вероятность гибели эмбриона, плода [210].

В соответствии с данными ВОЗ [181], ежегодно около 1125000 женщин Латинской Америки репродуктивного возраста заражаются американским трипаносомозом с последующей трансплацентарной передачей возбудителя в 8668 случаев, 50 % которых приходится на жителей Мексики, Аргентины и Колумбии. В различных странах мира трансплацентарная передача болезни Шагаса наблюдается в эндемичных районах в 5 % случаев с последующим нарушением работы иммунной системы новорожденного [179, 214]. Африканский трипаносомоз у беременных женщин приводит к острому заболеванию плода, в то время как инвазия американским трипаносомозом протекает хронически [281]. При скрининговом серологическом обследовании 1786 жителей Буэнос Айрес (Аргентина) выявлено 73 серопозитивных к болезни Шагаса (56 женщин и 17 их детей) [301].

Влияние трематод на течение беременности у хозяина изучено только при шистосомозах и описторхозе. Показано, что у беременных коров, инвазированных *Shistosoma mattheei*, наблюдается трансплацентарная передача специфических шистосоматидных антигенов и IgG1 антител [289]. При экспериментальном шистосомозе беременность утяжеляет течение заболевания за счет стимуляции выработки специфических паразитарных интерлейкинов - 4 [291]. У мышей, рожденных самками, зараженными *S. mansoni* развивается реакция гиперчувствительности, повышаются уровни IgG1/IgG2a, продукция цитокинов и CD4⁺ FoxP3⁺ Т-клеток спленоцитами [216]. У пренатально зараженных свиней *Shistosoma japonicum* достоверно повышаются уровни интерлейкинов - 4, - 10, - 12 и фактора некроза опухоли- α по сравнению с контрольными животными [192]. У детей, родившихся от матерей, перенесших во время беременности шистосомоз Мэнсона, пролеченных антигельминтиками, в течение пяти лет снижается эффективность иммунизации, нарушается интеллектуальное развитие, повышается предрасположенность к инфекционным и паразитарным заболеваниям [156, 282]. У женщин с внематочной беременностью маточные трубы поражаются шистосомами [299]. У женщин с

описторхозом в 2-4 раза чаще регистрируются токсикозы второй половины беременности и слабость родовой деятельности [54]. О.Н. Араповой было выяснено [3], что у женщин с хроническим описторхозом основными осложнениями беременности являлись: угроза прерывания, встречающаяся в 2,1 раза чаще, чем у здоровых беременных женщин, токсикозы первой и второй половины беременности, поздний гестоз во второй половине беременности, преждевременное излитие околоплодных вод, преждевременная отслойка плаценты, слабость родовой деятельности. Чаще угроза прерывания беременности наблюдалась при сроке инвазии до одного года и свыше 5 лет. Автором также было показано, что хронический описторхоз у беременных существенно сказывается на развитии плода и состоянии новорожденных. Дети, рожденные женщинами с хроническим описторхозом, в 10 % случаев были недоношенными, а это в 2 раза выше, чем у здоровых матерей. Маловесные новорожденные с задержкой внутриутробного развития составили 16 %, тогда как в контроле – 8 %. Показатель перинатальной смертности в группе матерей с обострением воспалительного процесса в печени в 3 раза превышал результаты здоровых женщин [3].

В настоящее время имеется единственное сообщение о возможном внутриутробном заражении финнами цестод. Показано, что цистицерки *Taenia hydatigena* могут локализоваться в хорион-аллантаической мембране эмбриона у инвазированных животных [258].

Большой интерес при изучении взаимоотношений в системе паразит-хозяин при беременности придает паразитическим нематодам. К наиболее распространенным геогельминтозам относят аскаридоз, некатороз, трихоцефалез [177]. Основным осложнением гельминтозов при беременности считается анемия, развитие которой приводит к снижению роста плода, повышению перинатальной смертности и заболеваемости у новорожденных [183, 274]. В случаях снижения уровня гемоглобина менее 70 г/л, у беременной женщины вероятность перинатальной смертности и гибели новорожденного увеличивается в 500 раз [274]. По мнению U. Herter et al. [283], беременность у женщин не снижает и не увеличивает их восприимчивость к аскаридозу, трихоцефалезу, некаторозу. В то же время показано, что аскаридоз и трихоцефалез наблюдаются у беременных жительниц Африки чаще (66 %), чем у небеременных (36

%) [226]. Р.Н. Nguyen et al. [231] при копрологическом обследовании населения Вьетнама установили, что 76 % женщин репродуктивного возраста инвазированы одним или несколькими видами геогельминтов, 36 % – некаторами, 59 % – аскаридами, 28 % – власоглавами. По мнению авторов, высокая пораженность женщин репродуктивного возраста определяет необходимость проведения массовой дегельминтизации из-за опасности нарушения протекания беременности [231]. При обследовании беременных жительниц Восточной Кении было установлено, что у 76,2 % паразитирует один вид геогельминтов (аскарида, некатор, власоглав), у 52,3 % – вместе с *Ascaris lumbricoides*, у 39,5 % – вместе с *Necator americanus* и у 29 % – вместе с *Trichuris trichiura* [215]. Показано, что нахождение паразитов в билиарной системе печени у женщин, больных аскаридозом, приводит к спонтанным абортam или преждевременным родам [245]. М.В. Куропатенко и Т.И. Шпилева [96] установили, что у серопозитивных по токсокарозу женщин чаще наблюдаются осложнения во время беременности в виде раннего токсикоза, тошноты, рвоты, отеков, дерматозов, угроз прерывания беременности, многоводия. У новорожденных детей, рожденных от этих матерей, чаще встречаются низкие показатели по шкале Апгар, осложнения в виде интранатальной гипоксии, аллергодерматитов. По мнению авторов, наличие серопозитивности по токсокарозу у женщин репродуктивного возраста следует расценивать как фактор риска акушерской и перинатальной патологии [96]. У 8 % беременных женщин Южной Бразилии одновременно выявляются антитела к токсоплазмам и токсокарам, а у новорожденных детей от них наблюдается снижение массы тела [271]. В г. Афины (Греция) висцеральный токсокароз выявляется у 17,16 % беременных женщин, а яйца токсокар выявляются в 17,08 % проб почвы [297]. Отмечаются единичные случаи заражения аскаридозом от беременной матери новорожденному [246]. Р.Л. Соопер et al. в 2015 году [201] были изучены результаты кожных скарификационных аллергических тестов у 2404 детей городского населения Эквадора на протяжении 3 лет от их рождения (возраст 13, 24 и 36 месяцев). Дети были рождены от женщин больных геогельминтозами, которые выявлялись у них в 45,9 % случаев. Установлено, что после аллергических тестов экзема и зуд наблюдаются в 17,7 % и 25,9 % случаев соответственно. У 2069 детей

(86,1 %) на протяжении 3 лет наблюдалась повышенная аллергическая реактивность, к любым аллергенам она была установлена в 17,2 % случаев и клещам домашней пыли в 8,7 % случаев [201].

Среди биогельминтов, влияющих на протекание беременности у хозяина, рассматриваются трихинеллы и филярии. G.G. Nuñez et al. в 2008 г. [235] при иммунологическом обследовании плаценты и пупочных канатиков, полученных от женщин, перенесших трихинеллез во время беременности, обнаружили специфические трихинеллезные антитела и иммуноглобулины G, E, A, M, что, по мнению авторов, может указывать на возможную трансплацентарную передачу личинок паразита [235]. У беременных женщин больных трихинеллезом часто отмечается увеличение числа выкидышей, а при изучении после них плаценты, полостных жидкостей, тканей и органов плода в последних обнаруживают личинок трихинелл [197, 305]. Показана трансплацентарная передача инвазии трихинеллами у линейных мышей линии BALB/C, морских свинок, рыжих лисиц и хорей, а интенсивность инвазии родившегося потомства колебалась от 1 до 24 личинок на одного новорожденное животное [1].

При экспериментальном нипостронгилоидозе показано, что беременность хозяина стимулирует развитие паразита и повышение выделение им яиц [300]. Не установлено достоверных отличий в морфологии внутренних органов, транспорте глюкозы при заражении лактирующих и нелактирующих самок мышей яйцами кишечной нематоды *Heligmosomoides polygyrus* и инвазия протекала одинаково [239]. В пупочных канатиках, полученных от беременных женщин больных филяриозами, обнаружены высокие уровни специфических паразитарных антител и иммуноглобулинов E, передающихся трансплацентарно и обуславливающих пренатальную сенсибилизацию плода к антигенам паразита [266]. У детей, рожденных от матерей, больных онхоцеркозом, лоаозом и другими лимфатическими филяриозами, установлена высокая предрасположенность к этому заболеванию [224, 242, 259]. Инвазии аскаридами, власоглавами, некаторами и мансонелами у беременных женщин, больных малярией, приводит к утяжелению анемии за счет снижения уровня гемоглобина и сывороточного железа по сравнению с наличием только одного заболевания [40, 253]. Считается, что

гельминтозы передающиеся человеку через рыбопродукты приводят к развитию анемии, снижению иммунитета, повышению риска инфекционных заболеваний у беременных женщин и нарушению развития плода, появлению уродств [213].

* * *

Паразитические простейшие и гельминты представляют серьезную опасность для организма женщины и плода во время беременности. Паразиты могут обладать эмбриотоксическим, фетотоксическим и тератогенным воздействиями на эмбрион или плод, нарушая его развитие или приводя последнего к гибели. Раскрытие генотоксических, цитотоксических, эмбриотоксических и тератогенных воздействий инвазии гельминтами на клетки млекопитающих даст возможность выявить факторы, определяющие врожденную патологию, объяснить передачу мутаций в генеративных клетках от инвазированных родительских особей потомкам, разработать способы профилактики врожденных уродств у млекопитающих и человека.

4.2. Генотоксические и цитотоксические эффекты инвазий гельминтами в соматических клетках и клетках эмбрионов млекопитающих при заражении до и после наступления беременности

Нами были изучены возможные изменения в ядерной ДНК и возникновение апоптоза клеток костного мозга у беременных самок золотистых хомяков и клеток их эмбрионов в зависимости от дозы заражения яйцами кошачьих сосальщиков [93]. Исследование проводилось на 30 самках золотистых хомяков. Животных разделяли на три группы: одна контрольная и две опытные. В каждой группе по 10 животных. Для заражения опытных животных получали жизнеспособных метацеркариев *O. felineus* по методу, разработанному Д.Г. Баяндиной и соавт. в нашей модификации [273]. Животных первой опытной группы заражали перорально жизнеспособными метацеркариями кошачьего сосальщика из расчета 2 метацеркария на 1 г массы тела животного. Доза заражения для животных второй опытной группы составляла 4 метацеркария на 1 г

массы тела. Контрольной группе животных вводили перорально стерильный 0,9 % раствор хлорида натрия в объеме 0,5 мл. На 30-й день инвазии проводили скрещивание животных в соотношении 2 самки к 1 самцу в течение 48 часов. Наступление беременности у самок определяли по гиперемии наружных половых органов и наличию сперматозоидов в мазке из влагалища. Инвазированность животных кошачьим сосальщиком устанавливали по наличию яиц *O. felineus* в фекалиях хомяков, которые начали появляться на 22-ой день после заражения. На 18-й день беременности производили умерщвление самок золотистых хомяков путём декапитации под эфирным наркозом, выделяли бедренные кости и матки с эмбрионами.

Исследование клеток костного мозга заражённых хомяков 1-ой опытной группы (доза заражения 2 метацеркария на 1г массы тела) показало, что “момент хвоста комет” составил $0,13 \pm 0,02$, это превышало контрольный показатель в 1,4 раза. Процент апоптотических клеток в костном мозге составил $2,60 \pm 0,70$, что превышало контроль в 3,25 раза. В эмбриональных клетках 1-ой опытной группы животных “момент хвоста комет” был равен $0,08 \pm 0,01$, что в 1,6 раза превысило показания контрольной группы. Процент апоптотических клеток у эмбрионов составлял $2,40 \pm 0,52$, что превысило показания контрольной группы в 4,8 раза.

У животных 2-й опытной группы (доза заражения 4 метацеркария на 1г массы тела) показатель “момента хвоста комет” и процент апоптотических клеток в костном мозге возросли по отношению к контролю, в 9,6 и 7,4 раза соответственно. В клетках эмбрионов 2-й опытной группы “момент хвоста комет” возрос в 13 раз, в сравнении с контрольными показателями, а апоптоз – в 10,2 раза соответственно.

Таким образом, метаболиты марит кошачьего сосальщика оказывают генотоксическое воздействие на соматические (костный мозг) и эмбриональные клетки золотистых хомяков. Генотоксический эффект в клетках костного мозга возрастает в 6,6 раза и в 8,1 раза в эмбриональных клетках при увеличении дозы заражения в 2 раза. Цитотоксическое воздействие метаболитов марит описторхисов также возрастает при увеличении дозы заражения. Так, в клетках костного мозга животных 2-ой опытной группы апоптоз возрос в 2,3

раза, по отношению к 1-ой опытной группе, а в эмбриональных клетках – в 2,1 раза соответственно [93].

Нами были изучены изменения в геноме самок и их эмбрионов при висцеральном токсокарозе во время беременности животных [189]. Для исследования использовали беременных самок крыс линии Wistar, зараженных инвазионными яйцами *T. canis* в дозе 20 яиц/г. на 10 день беременности. У животных, инвазированных токсокарами, в костном мозге самок и клетках эмбрионов достоверно повышались все показатели генотоксичности и цитотоксичности. Так, в клетках костного мозга показатель “длины хвостов комет” в 3,6 раза превысил контрольный показатель, а процент ДНК в “хвостах комет” – в 10,1 раза. Основной показатель генотоксичности – превысил интактный контроль в 53 раза, а цитотоксичности - в 2, 9 раза. В клетках эмбрионов показатели генотоксичности (“длина хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет”) превышали достоверно данные интактного контроля в 4,9 и 13,4 раза соответственно. Показатель “момента хвоста комет” превысил контрольный в 79,5 раза. Процент апоптотических клеток возрос в 1,4 раза в сравнении с контролем [66].

Нами были изучены возможные генотоксический и цитотоксический эффекты в клетках костного мозга беременных самок и клетках их эмбрионов при экспериментальном миграционном аскаридозе в зависимости от срока заражения [65]. Исследования проведены на 30-ти беременных самках белых беспородных мышей массой 16-18 г в возрасте 3-4 месяца, которых разделяли на 3 группы по 10 животных в каждой. Мышам 1-ой группы (интактный контроль) вводили внутривентрально 0,2 мл 2 % крахмального геля. Мышей второй и третьей группы заражали внутривентрально в дозе 20 инвазионных яиц *A. suum* на 1 г массы тела на 1-й и 10-й дни беременности соответственно. На 14-й день беременности всех самок умерщвляли путем декапитации, выделяли бедренные кости и матку с эмбрионами. Генотоксические и цитотоксические изменения у инвазированных самок и эмбрионов второй и третьей групп учитывали на 14-й и 4-й дни миграции личинок аскарид с момента заражения соответственно.

При заражении на 1-й день беременности культурой инвазионных яиц *A. suum* в дозе 20 на 1 г массы тела животного в

костном мозге самок на 14-й день беременности все исследуемые показатели генотоксичности, кроме процента ДНК в “хвостах комет”, не отличались от уровня контроля (Табл. 4.1). Последний в 1,7 раза был выше контрольного уровня. Показатель цитотоксичности достоверно не отличался от уровня контроля. В клетках эмбрионов все исследуемые показатели генотоксичности и цитотоксичности не отличались от уровня контроля.

Таблица 4.1

Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток при миграционном аскаридозе в костном мозге белых беспородных мышей-самок и их эмбрионов на 14-й беременности.

Группа исследований	Исследуемый показатель	Длина “хвостов комет” (в пикселях)	% ДНК в “хвостах комет”	“Момент хвоста комет”	% апоптотических клеток
Контрольная	Костный мозг самок	3,71±0,39	0,71±0,27	0,05±0,03	0,30±0,48
	Клетки эмбрионов	4,71±0,60	1,43±0,40	0,10±0,06	0,90±0,99
14-й день инвазии A. suum (заражение на 1-й день беременности)	Костный мозг самок	4,25±1,04	1,24±0,36*	0,06±0,03	0,70±0,82
	Клетки эмбрионов	5,01±1,68	1,72±0,40	0,09±0,03	0,40±0,70
4-й день инвазии A. suum (заражение на 10-й день беременности)	Костный мозг самок	10,02±2,81*	5,23±2,01*	0,69±0,30*	3,70±0,95*
	Клетки эмбрионов	11,06±1,70*	5,20±1,45*	0,82±0,28*	6,50±1,27*

Примечание: *- достоверное отличие от данных контрольной группы при P<0,01-0,05.

При заражении на 10-й день беременности все исследуемые показатели генотоксичности в клетках костного мозга самок достоверно превышали контрольные величины (Табл. 4.1). Так, длина “хвостов комет” составила 10,02±2,81 пикселей и была в 2,7 раза выше контроля. Процент ДНК в “хвостах комет” был выше контрольного показателя в 7,3 раза. “Момент хвоста” был в 13,8 раз выше контрольного уровня. Число апоптотических клеток было

достоверно выше в 12,3 раза, чем в группе интактного контроля. В клетках эмбрионов длина “хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет” в 2,3 и 3,6 раза соответственно были выше контрольных показателей. “Момент хвоста” также изменялся и превышал контрольный уровень в 8,2 раза. Число апоптотических эмбриональных клеток было достоверно выше в 7,2 раза контрольного уровня.

Таким образом, было установлено, что миграция личинок аскарид при заражении на 10-й день после оплодотворения (4-й день инвазии) сопровождается генотоксическим и цитотоксическим эффектом в соматических клетках костного мозга самок и клеток их эмбрионов на 14-й день беременности [65]. Инвазия сопровождается увеличением количества одноцепочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК в клетках костного мозга на 4,52 % и в клетках эмбрионов на 3,77 %, а также ростом числа апоптотических клеток в 7,2–12,3 раза.

Е.С. Пашинской и соавт. [50, 115] было показано, что при скрещивании экспериментальных животных на 13-й (миграционная стадия трихинеллеза) и 21-й (мышечная стадия трихинеллеза) дни после заражения в клетках костного мозга самок наблюдалось повреждение наследственного аппарата, которое характеризовалось ростом в 4,3 и 3,4 раза процента ДНК в “хвостах комет”, а также в 10,7 и 7,7 раза “момента хвоста комет”. При моделировании трихинеллеза с 1-го дня беременности наблюдались генотоксические изменения как в клетках костного мозга хозяина, так и в клетках эмбрионов на 14-ый день от заражения. Отмечалось повышение процента ДНК в “хвостах комет” в клетках костного мозга беременных самок и их эмбрионов в 4,2–5,9 раза по сравнению с показателем контроля. “Момент хвоста комет” в клетках костного мозга самок и эмбрионов соответственно в 9,5 и 11,3 раз превышали контрольные величины. При скрещивании на 13-й (миграционная стадия трихинеллеза) и 21-й (мышечная стадия трихинеллеза) дни после заражения к 27-му и 35-му дням исследования секреторно-экскреторные продукты трихинелл обладали цитотоксическим воздействием на костный мозг самок, характеризующимся увеличением числа апоптотических в 11 и 7 раз [50, 115].

Таким образом, метаболиты мариит кошачьего сосальщика, личинок токсокар, аскарид и трихинелл во время беременности хозяина оказывают генотоксическое и цитотоксическое воздействия на соматические клетки (костный мозг) и клетки их эмбрионов млекопитающих семейств мышевидных и хомяковых грызунов вызывая рост ППЯ ДНК клеток и числа апоптотических клеток.

4.3. Влияние сенсibilизации белковыми соматическими продуктами из тканей гельминтов на генотоксические и цитотоксические изменения в соматических, генеративных, эмбриональных клетках хозяина

В 2013 г. Д.К. Кужелем и В.В. Зориной [89] было изучено влияние сенсibilизации БСП из тканей описторхисов на цитогенетические изменения в эмбриональных клетках золотистых хомяков на разных стадиях беременности. Исследования проводили на 40 беременных самках золотистых хомяков, которых разделяли на 4 группы по 10 животных в каждой. Первая группа была контрольной, а вторая, третья и четвертая – опытные. Получение БСП из тканей описторхисов проводили в соответствии с методикой В.Я. Бекиша. БСП стерилизовался через бактерицидные капроновые фильтры с размером поры 0,45 мкм. Определение белка проводили биуретовым методом. Контрольной группе вводили внутрибрюшинно стерильный 0,9 % раствор хлорида натрия в объеме 0,5 мл на 5-8 дни беременности. Первой опытной группе животных вводили внутрибрюшинно БСП в суточной дозе 50 мкг/г массы тела животного на стадии раннего органогенеза эмбрионов (5-8 дни беременности), второй – на стадии позднего органогенеза (9-12 дни беременности) и третьей – на стадии плодного периода (13-16 дни беременности) в тех же дозах. На 19-й день беременности животных всех групп умерщвляли под эфирным наркозом. Выделяли матки с эмбрионами. От каждого животного брали по 2 жизнеспособных эмбриона и на их клетках проводили метод “ДНК-комет”.

В ходе исследования эмбрионов животных 1-ой опытной группы наблюдается увеличение анализируемых показателей: длины

“хвостов комет” – в 2,3 раза, процент ДНК в “хвостах комет” – в 2,7 раза, “момента хвоста комет” – в 4 раза, а процент апоптотических клеток возрос в 6,3 раза по сравнению с показателями контрольной группы.

При изучении клеток эмбрионов у самок, сенсibilизированных на стадии позднего органогенеза длина “хвостов комет” составила $9,36 \pm 0,59$ пикселей, что превысило контрольный показатель в 3,2 раза. Процент ДНК в “хвостах комет” был в 5,5 раза выше показателя контроля. “Момент хвоста комет” составил $0,32 \pm 0,06$, а процент апоптотических клеток был равен $6,50 \pm 0,71$.

Показатель длины “хвостов комет” в эмбриональных клетках у животных, сенсibilизированных на стадии плодного периода (13-16 дни беременности), составил $11,83 \pm 1,07$ пикселей, что превышало контрольные показатели в 4 раза. Процент ДНК в “хвостах комет” возрос до $1,88 \pm 0,34$. “Момент хвоста комет” увеличился в 30,5 раза, а процент апоптотических клеток увеличился в 3,2 раза по сравнению с показателями группы контроля.

Таким образом, было показано, что БСП из тканей описторхисов обладает выраженным генотоксическим и цитотоксическим эффектам в эмбриональных клетках при сенсibilизации беременных самок золотистых хомяков на стадиях раннего, позднего органогенеза и плодного периода. Это выражается увеличением в эмбриональных клетках процента поврежденной ДНК в 4-30,5 раза, а также числа апоптотических клеток в 3,2-6,3 раза [89].

Нами было изучено состояния уровней возможных ППЯ ДНК соматических и генеративных клеток хозяина при сенсibilизации БСП из тканей тениид в зависимости от дозы их введения [16]. Для изучения наличия возможных генотоксического и цитотоксического эффектов в геноме млекопитающих при инвазиях тениид и при трехкратной подкожной сенсibilизации БСП из тканей половозрелых паразитов *T. solium* и *T. saginatus* применяли щелочной гель-электрофорез изолированных клеток в костном мозге и семенниках. Исследования были проведены на 35 мышах-самцах линии СВА 4-5 месячного возраста массой 18-20 г. Животные были разделены на 3 группы в зависимости от исследуемого паразитарного продукта: первая контрольная группа состояла из 5 мышей, вторая (БСП *T. solium*) и третья (БСП *T. saginatus*) – по 15 мышей. Мышам

контрольной группы вводили трехкратно подкожно во внутреннюю поверхность бедра по 0,2 мл 0,9 % раствора хлорида натрия. Вторая и третья группы состояли каждая из 3 подгрупп по 5 животных, которым вводили трехкратно подкожно во внутреннюю поверхность бедра БСП *T. solium* или БСП *T. saginatus* из расчета 200, 400 или 800 мкг/г массы тела животного соответственно. Учет изменений в клетках костного мозга и семенников сенсibilизированных животных проводили на 4-й день от первого введения БСП.

При проведении щелочного гель-электрофореза изолированных клеток костного мозга у сенсibilизированных БСП из тканей *T. solium* в дозе 200 мкг/г массы тела животных “момент хвоста” и процент апоптотических клеток достоверно не превышал контрольный уровень (Рис. 4.1 - 4.2). При повышении дозы БСП из тканей *T. solium* до 400 мкг/г в костном мозге наблюдалось повышение “момента хвоста” и процента апоптотических клеток в 2,5

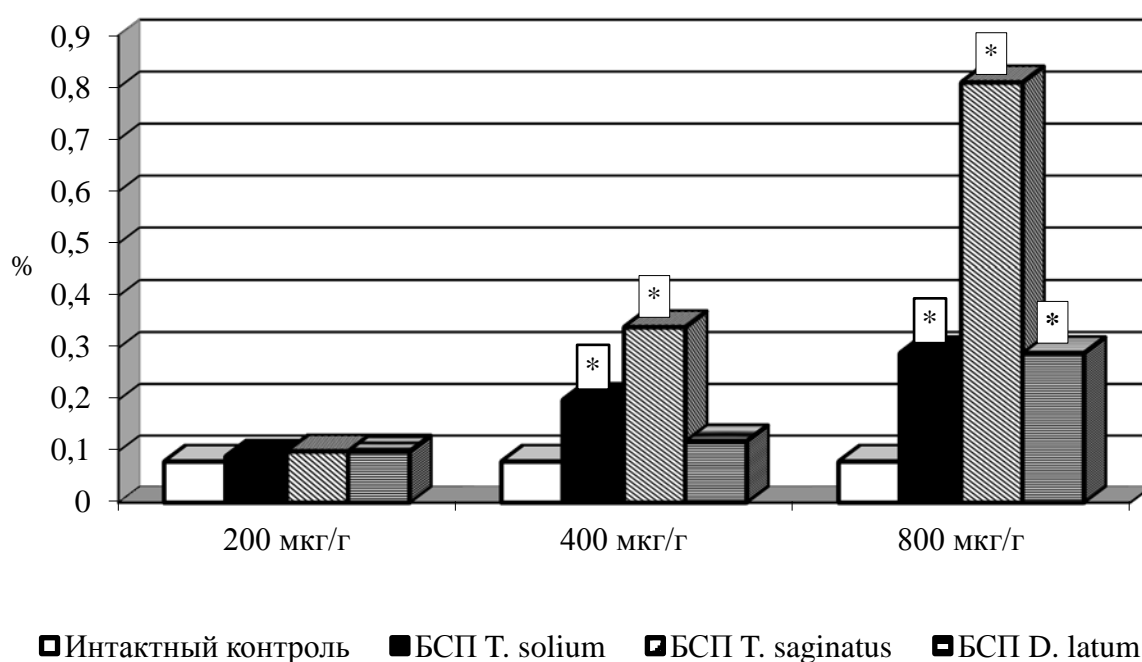


Рис. 4.1. “Момент хвоста” клеток костного мозга мышей при трехкратной подкожной сенсibilизации белковыми соматическими продуктами (БСП) из тканей цестод (* – достоверное отличие от показателей контроля при $P < 0,01-0,05$).

и 12 раз соответственно по сравнению с показателями контрольной группы. Увеличение дозы БСП из тканей *T. solium* до 800 мкг/г характеризовалось повышением “момента хвоста” клеток костного

мозга у сенсibilизированных животных в 3,6 раза по отношению к показателям контроля. Процент апоптотических клеток в 11 раз превышал уровень негативного контроля.

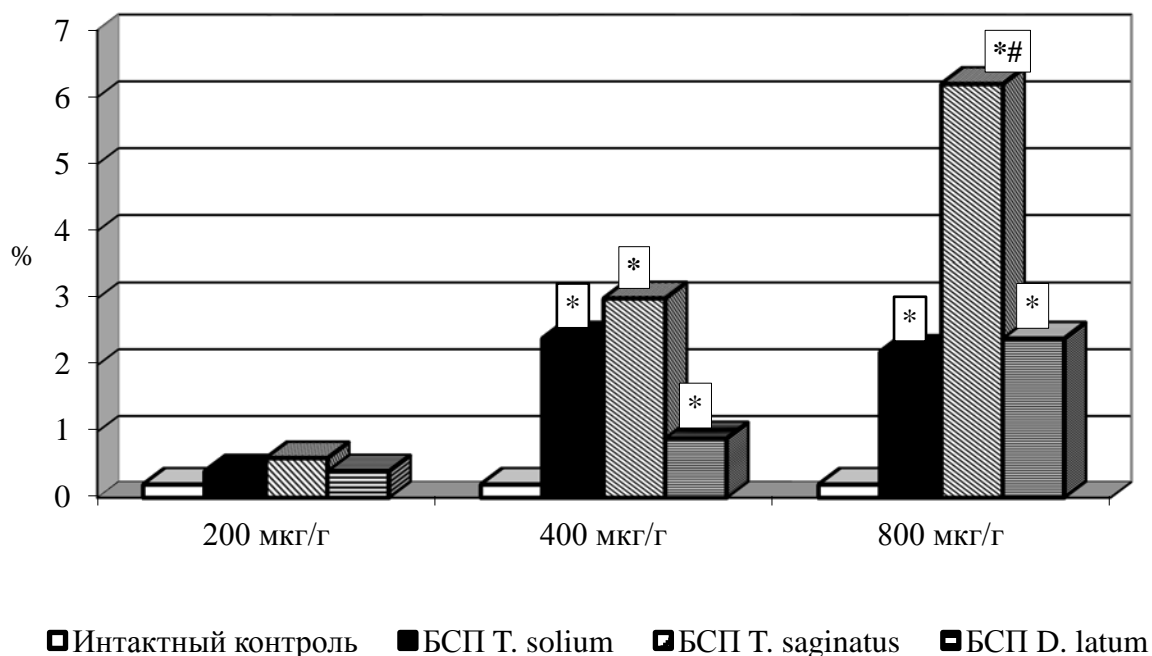


Рис. 4.2. Апоптотические клетки костного мозга мышей при трехкратной подкожной сенсibilизации белковыми соматическими продуктами (БСП) из тканей цестод (* – достоверное отличие от показателей контроля, # – от показателей дозы 400 мкг/г при $P < 0,01-0,05$).

При сенсibilизации животных БСП из тканей *T. saginatus* в дозе 200 мкг/г массы тела все исследуемые показатели щелочного геле-электрофореза изолированных клеток костного мозга не превышали контрольные показатели (Рис. 4.1 - 4.2). Увеличение дозы сенсibilизации БСП из тканей *T. saginatus* до 400 мкг/г массы тела сопровождалось достоверным повышением “момента хвоста” и уровня апоптотических клеток в 4,25 и 15 раз соответственно по сравнению с контрольными показателями. При увеличении дозы БСП из тканей *T. saginatus* до 800 мкг/г “момент хвоста” клеток костного мозга сенсibilизированных животных был выше в 10,1 раз показателя негативного контроля и в 2,4 раза превышал этот показатель при дозе в 400 мкг/г. Процент апоптотических клеток в 31 раз превышал уровень негативного контроля и в 2,1 раза был больше, чем при дозе в 400 мкг/г.

При проведении щелочного гель-электрофореза изолированных клеток в семенниках у sensibilizированных БСП из тканей *T. solium* в дозе 200 мкг/г массы тела животных “момент хвоста” и процент апоптотических клеток достоверно не превышал контрольный уровень (Рис. 4.3 - 4.4). При повышении дозы БСП из тканей *T. solium* до 400 мкг/г в семенниках наблюдалось повышение “момента хвоста” и процента апоптотических клеток в 4,46 и 2,5 раз соответственно по сравнению с контрольными показателями. При увеличении дозы БСП из тканей *T. solium* до 800 мкг/г “момент хвоста” клеток семенников sensibilizированных животных был выше в 3,6 раза показателя негативного контроля. Процент апоптотических клеток в 1,8 раз превышал уровень негативного контроля.

При sensibilизации животных БСП из тканей *T. saginatus* в дозе 200 мкг/г массы тела все изучаемые показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток в семенниках sensibilizированных мышей не превышали контрольные уровни (Рис. 4.3 - 4.4).

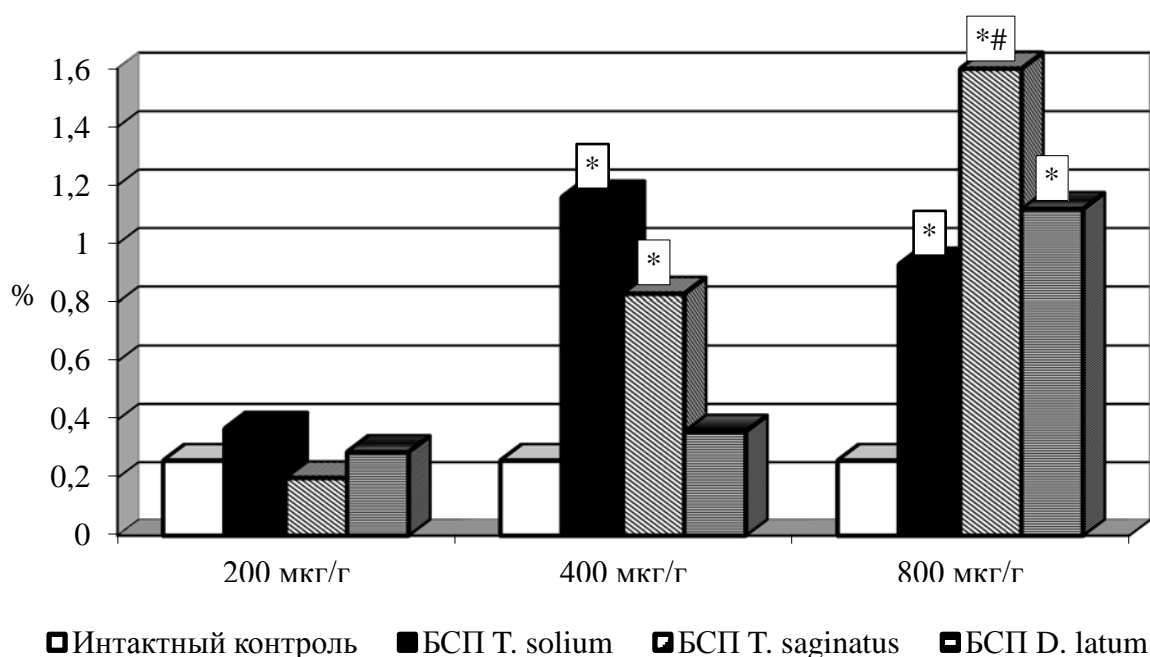


Рис. 4.3 “Момент хвоста” клеток семенников мышей при трехкратной подкожной sensibilизации белковыми соматическими продуктами (БСП) из тканей цестод (* – достоверное отличие от показателей контроля, # – от показателей дозы 400 мкг/г при $P < 0,01-0,05$).

Увеличение дозы сенсibilизации БСП из тканей *T. saginatus* до 400 мкг/г массы тела характеризовалось достоверным повышением “момента хвоста” и уровня апоптотических клеток в 3,2 и 1,5 раз соответственно по сравнению с контрольными показателями. При увеличении дозы БСП из тканей *T. saginatus* до 800 мкг/г “момент хвоста” клеток семенников у сенсibilизированных животных был выше в 6,15 раз контрольного уровня и в 1,9 раза превышал этот показатель при дозе в 400 мкг/г. Процент апоптотических клеток в 2,7 раза превышал уровень негативного контроля и в 1,8 раза был больше, чем при дозе в 400 мкг/г.

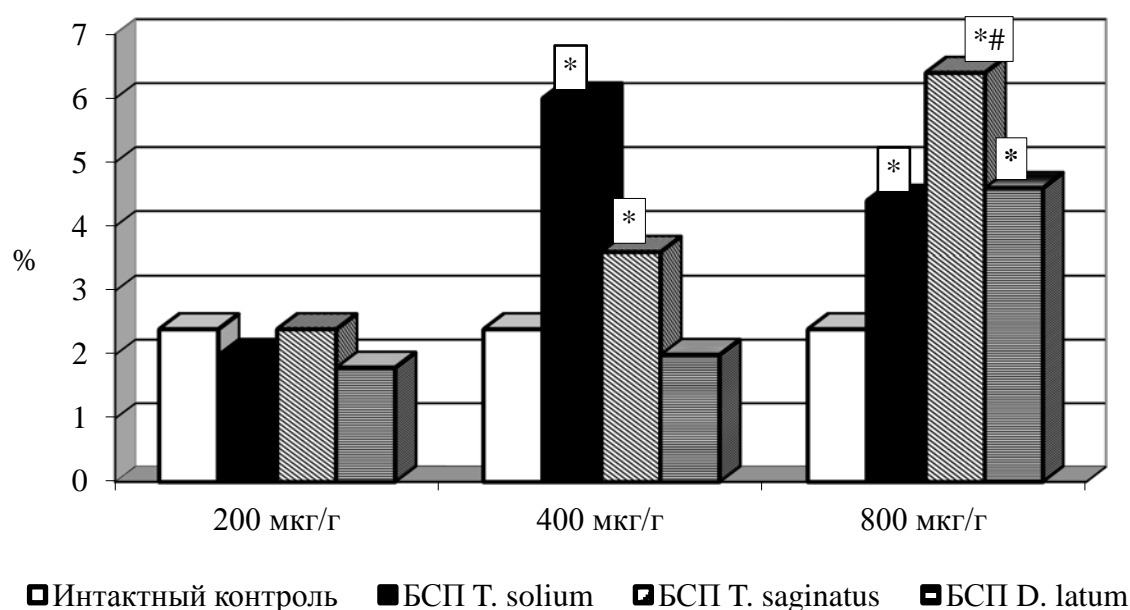


Рис. 4.4. Апоптотические клетки семенников мышей при трехкратной подкожной сенсibilизации белковыми соматическими продуктами (БСП) из тканей цестод (* – достоверное отличие от показателей контроля, # – от показателей дозы 400 мкг/г при $P < 0,01-0,05$).

Таким образом, было установлено, что трехкратная подкожная сенсibilизация БСП из тканей *T. solium* и *T. saginatus* в дозе 400 и 800 мкг/г сопровождается генотоксическим эффектом в соматических клетках костного мозга и генеративных клетках семенников мышей, который характеризуется ростом одноцепочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК клеток. Рост повреждений ядерной молекулы ДНК клеток зависит от дозы БСП из тканей *T.*

saginata и достоверно возрастает при ее увеличении. Дозозависимый эффект четко прослеживается на изменениях “момента хвоста”. Последний увеличивался в 2,4 раза в клетках костного и в 1,9 раза в клетках семенников при увеличении дозы БСП из тканей *T. saginata* с 400 до 800 мкг/г массы тела животного.

БСП из тканей *T. solium* и *T. saginata* при трехкратной подкожной сенсибилизации в дозе 400 и 800 мкг/г массы тела животного оказывает также цитотоксическое воздействие в виде роста апоптотических клеток костного мозга и семенников. Кроме того, БСП из тканей *T. saginata* обладает дозозависимым цитотоксическим воздействием. При увеличении его дозы с 400 до 800 мкг/г массы тела животного число апоптотических клеток возрастало в 2,1 раза в костном мозге и в 1,8 раза в семенниках по сравнению с данными дозы 200 мкг/г [16].

Нами были изучены возможные генотоксические и цитотоксические эффекты в клетках хозяина при сенсибилизации БСП из тканей широкого лентеца мышей-самцов линии СВА были, которые были разделены на 2 группы [63]. Первая группа – контрольная, включала 10, а вторая, сенсибилизированная БСП *D. latum*, – 30 мышей. Мышам контрольной группы вводили трехкратно подкожно во внутреннюю поверхность бедра по 0,2 мл стерильного 0,9 % раствора хлорида натрия. Вторая группа состояла из 3 подгрупп по 10 животных, которым вводили трехкратно подкожно во внутреннюю поверхность бедра БСП *D. latum* из расчета 200, 400 или 800 мкг/г массы тела животного соответственно. Учет изменений методом “ДНК-комет” в костном мозге и семенниках проводили у животных на 4-й день от первого введения паразитарного продукта или 0,9 % раствора хлорида натрия.

При проведении метода “ДНК-комет” клеток костного мозга у сенсибилизированных БСП из тканей *D. latum* в дозе 200 и 400 мкг/г массы тела животных все показатели генотоксичности и цитотоксичности достоверно не превышали контрольный уровень (Рис. 4.1 - 4.2). При повышении дозы БСП из тканей *D. latum* до 800 мкг/г в костном мозге наблюдалось повышение “длины хвостов комет” и процента ДНК в “хвостах комет” в 1,5 и 2,9 раза соответственно по отношению к контрольным показателям. “Момент хвоста” клеток костного мозга у сенсибилизированных животных

был выше в 4,8 раза по отношению к показателям контроля. Процент апоптотических клеток в 12 раз превышал уровень негативного контроля.

В семенниках у sensibilized БСП из тканей *D. latum* в дозе 200 и 400 мкг/г массы тела животных “длина хвостов комет”, процент ДНК в “хвостах комет”, “момент хвоста” и процент апоптотических клеток достоверно не превышали контрольные уровни (Рис. 4.3 - 4.4). При повышении дозы БСП из тканей *D. latum* до 800 мкг/г в семенниках наблюдалось повышение “длины хвостов комет” и процента ДНК в “хвостах комет” в 2,4 и 2,1 раза соответственно по отношению к контрольным показателям. “Момент хвоста” клеток костного мозга у sensibilized животных был выше в 4,5 раза по отношению к показателям контроля. Процент апоптотических клеток в 2 раза превышал уровень негативного контроля.

Таким образом, было показано, что трехкратная подкожная sensibilization БСП из тканей *D. latum* в дозе 800 мкг/г характеризуется генотоксическим и цитотоксическим эффектами в соматических клетках костного мозга и генеративных клетках семенников мышей линии СВА, который проявляется ростом одноцепочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК до 2,41-7,16 % и апоптотических клеток до 2,40-4,60 % [63].

Е.С. Пашинской в 2011 г. при применении метода “ДНК-комет” было показано, что введение крысам белкового секреторно-экскреторно-соматического продукта (БСЭСП) личинок *T. spiralis* вызывает генотоксические изменения как в клетках костного мозга хозяина, так и в клетках эмбрионов [108]. У беременных самок крыс линии Wistar в клетках эмбрионов при внутрибрюшинном введении БСЭСП личинок *T. spiralis* наблюдалось повышение процента ДНК в “хвостах комет” в 7,5 раза; “момента хвоста” комет – 11 раз. В эмбриональных клетках крыс 3-й группы после инъекций БСЭСП личинок *T. spiralis* с 9-го по 12-й дни (поздний период) процент ДНК в “хвостах комет” превышал контроль в 2,12 раза, “момент хвоста” комет – в 3,5 раз. В клетках эмбрионов самок 4-ой группы после введения БСЭСП личинок *T. spiralis* с 13-го по 16-й дни беременности (плодный период) наблюдалось увеличение “момента хвоста” в 11,4 раза. Исследование клеток костного мозга самок крыс

после инъекций БСЭСП с 5-го по 8-ой дни беременности (ранний период формирования плода) показало процента ДНК в “хвостах комет” – в 6,5 раза, “момента хвоста” – в 3,6 раза. Полученные результаты после исследования костного мозга животных, которым инъецировали БСЭСП личинок *T. spiralis* с 9-го по 12-й дни (поздний период) выявили, что “момент хвоста” превысил контрольные показатели в 6,5 раза. После введения БСЭСП личинок *T. spiralis* с 13-го по 16-й дни беременности (плодный период) наблюдалось повышение “момента хвоста” комет – в 5,5 раз. В костном мозге самок крыс после инъекций БСЭСП показатель цитотоксичности достоверно превышал контрольные величины на всех этапах исследования. У животных, которым вводили БСЭСП личинок *T. spiralis* с 5-го по 8-й дни беременности (ранний период), показатель числа апоптотических клеток возрастал в 7,2 раза. При исследовании костного мозга крыс, которым инъецировали БСЭСП личинок *T. spiralis* с 9-го по 12-й дни (поздний период развития) выяснено, что процент апоптотических клеток возрастал в 7,2 раза. После введения БСЭСП личинок *T. spiralis* с 13-го по 16-й дни беременности (плодный период) в костном мозге самок крыс наблюдался рост числа апоптотических клеток в 10,4 раза по сравнению с контролем. При внутрибрюшинном введении животным БСЭСП личинок *T. spiralis* с 5-го по 8-й дни беременности (ранний период развития) в клетках эмбрионов наблюдалось повышение числа апоптотических телец в 8 раз соответственно. В эмбриональных клетках крыс после инъекций БСЭСП личинок *T. spiralis* с 9-го по 12-ый дни (поздняя стадия органогенеза) число апоптотических клеток возросло в 2,63 раза. У эмбрионов самок, которым вводили БСЭСП личинок *T. spiralis* с 13-го по 16-й дни беременности (плодный период), показатель цитотоксичности превышал контрольные данные в 4,52 раза [257].

На основании вышеизложенного были сделаны выводы что, БСЭСП личинок *T. spiralis* обладает генотоксическим эффектом в клетках костного мозга беременных самок крыс и их эмбрионов при внутрибрюшинном введении в раннем, позднем и плодном периодах развития, который характеризуется повышением процента ППЯ ДНК в 2,12–7,5 раз. БСЭСП личинок *T. spiralis* обладает цитотоксическим эффектом на костный мозг беременных самок крыс и их эмбрионы при введении на раннем, позднем и плодном периодах развития

плодов, который характеризуется достоверным ростом числа апоптотических клеток в 2,63 - 10,4 раза [108, 109, 110, 116].

* * *

БСП из тканей описторхисов БСЭСП личинок *T. spiralis* обладают выраженным генотоксическим и цитотоксическим эффектами в соматических и эмбриональных клетках при внутрибрюшинном введении беременным самкам млекопитающим из семейств хомяковые и мышевидные грызуны на стадиях раннего, позднего органогенеза и плодного периода. Это выражается увеличением в эмбриональных клетках процента поврежденной ДНК в 2,12 - 30,5 раза, а также числа апоптотических клеток в 2,63 - 10,4 раза. Трехкратная подкожная сенсibilизация БСП из тканей *T. solium*, *T. saginatus* в дозах 400 и 800 мкг/г и *D. latum* в дозе 400 и 800 мкг/г сопровождается генотоксическим и цитотоксическим эффектами в соматических клетках костного мозга и генеративных клетках семенников мышей, который характеризуется ростом ППЯ ДНК клеток и уровня апоптоза. Рост ППЯ ДНК, апоптоза клеток зависит от дозы БСП из тканей *T. saginatus* и достоверно возрастает при ее увеличении.

4.4. Эмбриотоксический эффект инвазий гельминтами и введения продуктов их жизнедеятельности

Д.К. Кужелем и В.В. Зориной были изучены возможные изменения в эмбриогенезе, проявляющиеся только в постнатальном периоде жизни потомства золотистых хомяков у самок заражённых описторхозом до беременности. Исследование проводили на 20 самках золотистых хомяков 4-5 месячного возраста массой 60-80 грамм. Животных разделяли на 2 группы – опытная группа и группа контроля, по 10 самок в каждой группе. Животных опытной группы заражали перорально жизнеспособными метацеркариями кошачьего сосальщика из расчета 2 метацеркария на 1 г массы тела животного. На 30-й день инвазии проводили скрещивание животных опытной группы в соотношении 2 самки к 1 самцу в течение 48 часов. Наступление беременности у самок определяли по гиперемии наружных половых органов и наличию сперматозоидов в мазке из

влагалища. Инвазированность животных кошачьим сосальщиком устанавливали по наличию яиц *O. felineus* в фекалиях хомяков, которые начали появляться на 22-ой день после заражения. В дальнейшем все самки золотистых хомяков находились под наблюдением до наступления родов. Во время беременности у животных фиксировали рост массы тела, сравнивали поведение инвазированных и неинвазированных самок, контролировали срок беременности и течение родов. После рождения потомства определяли количество голов в помёте, количество живых хомяков в помёте, количество мертворождённых, среднюю массу в помёте (в граммах), наличие внешних, визуально определяемых уродств, среднюю длину плода при рождении (в сантиметрах), время открытия глаз (сутки), выживаемость потомства на 25-й день после родов, среднюю длину хомяков на 25-й день после родов.

Показатели антенатального развития у золотистых хомяков контрольной группы были следующие: количество голов в помёте составило $10,0 \pm 0,8$; количество живых хомяков в помёте – $10,0 \pm 0,8$; количество мертворождённых – 0; средняя масса в помёте (в граммах) – $4,8 \pm 0,6$; наличие внешних, визуально определяемых уродств – 0; средняя длина плода при рождении (в сантиметрах) – $2,3 \pm 0,4$; время открытия глаз (сутки) – $15,0 \pm 0,5$; выживаемость потомства на 25-й день после родов – $10,0 \pm 0,8$; средняя длина хомяков на 25-й день после родов (в сантиметрах) – $6,8 \pm 0,3$.

В опытной группе животных показатели антенатального развития при заражении самок до наступления беременности имели следующие значения: количество голов в помёте в среднем уменьшилось на 13 % и составило $8,7 \pm 0,4$; количество живых хомяков в помёте было в 1,5 раза меньше чем в группе контроля ($6,7 \pm 0,4$); количество мертворождённых хомяков равнялось $2,0 \pm 0,2$; средняя масса в помёте (в граммах) составила $3,6 \pm 0,8$, что в 1,3 раза было меньше показателя контрольной группы; наличие внешних, визуально определяемых уродств не обнаружено, как и в группе контроля; средняя длина плода при рождении (в сантиметрах) на 21,7 % была ниже аналогичного показателя в контрольной группе и составила $1,8 \pm 0,2$; время открытия глаз (сутки) увеличилось на 6,7 % по отношению к группе контроля; выживаемость потомства на 25-й день после родов была в 2,1 раза меньше, чем в группе контроля;

средняя длина хомяков на 25-й день после родов (в сантиметрах) составила $5,7 \pm 0,4$, что на 16,2 % меньше аналогичного показателя в группе контроля.

Исследование антенатального повреждающего действия описторхисов, регистрируемого в постнатальном периоде жизни потомства самок золотистых хомяков, выявило снижение численности потомства от инвазированных самок, уменьшение массы тела новорожденных хомяков, а также выживаемость потомства на 25-й день после родов была в 2,1 раза меньше по отношению к уровню интактного контроля.

Нами были изучены эмбриотоксические изменения при экспериментальном миграционном аскаридозе в зависимости от срока заражения. Исследования проведены на беременных белых беспородных мышей массой 16-18 г в возрасте 3-4 месяца, зараженных внутрижелудочно в дозе 20 инвазионных яиц *A. suum* на 1 г массы тела на 1-й и 10-й дни беременности соответственно. На 14-й день беременности всех самок умерщвляли путем декапитации, выделяли бедренные кости и матку с эмбрионами. Эмбриотоксические изменения у инвазированных самок учитывали на 14-й и 4-й дни миграции личинок аскарид с момента заражения соответственно.

Эмбриотоксические изменения определяли с учетом рекомендаций Р.У. Хабриева и соавт., Б.И. Любимова и соавт. по экспериментальному (доклиническому) изучению репродуктивной токсичности новых фармакологических веществ [100, 129]. После выделения у беременных самок маток определяли количество желтых тел, мест имплантации, общее количество эмбрионов, число живых и мертвых эмбрионов, количество резорбций, среднюю массу эмбрионов в помете и краниокаудальный размер. Основными показателями эмбриотоксичности считали предимплантационную смертность (разность между количеством желтых тел в яичниках и количеством мест имплантации в матке) и постимплантационную гибель (разность между количеством мест имплантации и количеством живых плодов).

В группе интактного контроля предимплантационная гибель составила 1,24 %, а постимплантационная – 7,5 % (Табл. 4.2).

Таблица 4.2

Показатели эмбриотоксичности при миграционном аскаридозе у белых беспородных мышей-самок на 14-й день беременности.

Группа исследований		Контрольная	14-й день инвазии A. suum (заражение на 1-й день беременности)	4-й день инвазии A. suum (заражение на 10-й день беременности)
Исследуемый показатель				
Количество желтых тел		8,10±1,79	8,20±1,32	8,40±0,97
Количество мест имплантации		8,00±2,00	8,00±1,60	8,00±1,60
Общее количество эмбрионов		7,80±2,04	7,80±1,62	8,00±1,56
Количество живых эмбрионов		7,40±1,58	5,50±1,08*	6,50±1,84
Количество резорбций		—	0,40±0,52*	—
Количество мертвых эмбрионов		0,40±0,70	2,30±1,16*	1,50±0,85*
Средняя масса эмбрионов в помете		0,30±0,08	0,23±0,03*	0,24±0,02*
Средний краниокаудальный размер		9,98±0,64	9,05±0,75*	9,32±0,36*
Основные показатели эмбриотоксичности	предимплантационная гибель	1,24 %	2,44 %	4,76 %
	постимплантационная гибель	7,5 %	31,25 % *	20,00 % *

Примечание: * – достоверное отличие от данных контрольной группы при $P < 0,01-0,05$.

У зараженных в дозе 20 яиц *A. suum* на 1 г массы тела мышей с 1-го дня беременности на 14-й день инвазии количество желтых тел, мест имплантаций, общего числа эмбрионов достоверно не отличались от контрольных показателей (Табл. 4.2). Количество живых эмбрионов достоверно снизилось в 1,34 раза по отношению к интактному контролю. У инвазированных самок наблюдался рост числа резорбций, который составил $0,40 \pm 0,52$. Количество мертвых эмбрионов увеличилось в 5,75 раз в сравнении с интактным контролем. Средняя масса эмбрионов достоверно снизилась в 1,3 раза, а средний краниокаудальный размер уменьшился в 1,1 раза по сравнению с контролем. У зараженных самок предимплантационная

гибель эмбрионов достоверно не изменилась, а постимплантационная гибель в 4,16 раза превышала контрольный показатель.

При заражении на 10-й день беременности к 4-му дню миграции личинок аскарид количество желтых тел, мест имплантации, общее число эмбрионов, количества живых эмбрионов и резорбций у мышей достоверно не отличались от контрольных показателей (Табл. 1). Число мертвых эмбрионов достоверно увеличилось по сравнению с контролем в 3,75 раза. Средняя масса эмбрионов и краниокаудальный размер достоверно в 1,25 и 1,07 раза соответственно были меньше, чем в группе интактного контроля. У инвазированных животных предимплантационная гибель достоверно не изменилась по отношению к контролю. Постимплантационная гибель достоверно увеличилась в 2,66 раза по сравнению с контрольным показателем.

Таким образом, установлено, что миграция личинок аскарид сопровождается эмбриотоксическим эффектом на 14-й и 4-й дни инвазии, который характеризуется ростом постимплантационной гибели в 2,66 и 4,16 раза соответственно. Постимплантационная гибель возрастала за счет увеличения числа мертвых эмбрионов в 3,75–5,75 раза соответственно. Эмбриотоксический эффект миграции личинок аскарид также характеризовался уменьшением средней массы эмбрионов и краниокаудального размера в 1,07-1,3 раза по отношению к контрольным показателям.

Наибольший объем исследований по изучению возможных эмбрио-, фетотоксических свойств различных компонентов из тканей аскарид в эксперименте был проведен J. Blazkowska и соавт. [165, 166, 167, 236, 237]. Самкам мышей линии BALB/C вводили внутривентриально трипсиновый и α - химотрипсиновый ингибиторы из тканей *A. suum* и *A. lumbricoides* в дозах 20-80 мг/кг/день с 8-го по 12-й дни беременности, а на 19-й день учитывали гибель и морфологические изменения эмбрионов. Установлено, что трипсиновый и α - химотрипсиновый ингибиторы обладают эмбриотоксическим и тератогенным действиями, достоверно повышая число погибших эмбрионов и вызывая рост числа зародышей с расщелинами неба, микрогнатиями, сращением ребер, грыжами спинного и головного мозга [165, 167, 237]. Были установлены также эмбриотоксические и тератогенные эффекты гомогената из тканей

аскарид, трипсинового и α - химотрипсинового ингибиторов из тканей *A. suum* на куриные эмбрионы [166, 236].

При введении гомогената из тегументов аскарид (0,6-1,2 г белка аскарид/кг/день) беременным мышам на ранних стадиях органогенеза (5-9 дни беременности) наблюдалось снижение числа живых эмбрионов, увеличение количества резорбций, уменьшение оксификации скелета, а также рост числа эмбрионов с экзенцефалией, краниомегалией и внутренней гидроцефалией [163]. У сенситизированных беременных самок снижалась масса тела, увеличивались уровни смертности, вагинальных гемморагий, внутриматочных резорбций [163].

Внутрибрюшинное введение α - химотрипсинового ингибитора из тканей аскарид (40-300 мг/кг/день) на поздних стадиях органогенеза (8-12 дни гестации) обладает токсическим действием на течение беременности у мышей [168]. В низких дозах (40-80 мг/кг/день) α - химотрипсиновый ингибитор вызывал снижение числа живых плодов и увеличивал количество резорбций плодов, тогда как в высоких дозах (80-300 мг/кг/день) он обладал токсическим воздействием на организм самок. Токсическое влияние приводило к снижению массы тела самок, увеличению вагинальных гемморагий, внутриматочных резорбций, выкидышей и смертности, которые наблюдались сразу после введения α - химотрипсинового ингибитора [168]. По мнению J. Blazkowska и соавт. [168], половина летальной дозы ингибитора для самок составляет 116 мг/кг/день.

В дальнейшем было показано, что экстракт из свиных аскарид в высоких дозах (0,6-1,4 г белка из аскарид/кг/день) при его внутрибрюшинном введении на поздних стадиях органогенеза вызывал у беременных самок снижение массы тела, способствовал росту вагинальных гемморагий, внутриматочных резорбций и смертности животных [169]. Половина летальной дозы для самок составила 0,6-1,4 г белка из аскарид/кг/день [169].

После внутрибрюшинного введения α - химотрипсинового ингибитора из тканей аскарид в суточной дозе 40-80 мг/кг с 12 по 15 дни гестации (стадия развития плода) у самок наблюдалась кровоточивость матки, увеличивалось число выкидышей, снижалась масса тела мышей [164]. Эмбриотоксический эффект ингибитора из аскарид характеризовался увеличением внутриматочной гибели

плодов, снижением числа живых эмбрионов, оссификации скелета, патологическими изменениями в тканях и органах плодов, развитием гидронефроза [164].

Внутрибрюшинное введение пепсинового ингибитора из тканей свиной аскариды (100-300 мг/кг/день) самкам мышей линии BALB/c с 6-го по 15-ый дни беременности сопровождалось эмбриотоксическим эффектом, который характеризовался увеличением постимплантационной гибели в 4-11 раз за счет роста внутриматочных резорбций, гибели эмбрионов, а также характеризовался снижением массы эмбрионов, оссификации их скелетов, развитием у плодов гидронефроза и внутренней гидроцефалии [170].

Е.С. Пашинской в 2010 г. было показано [111], что инвазия трихинеллами сопровождается эмбриотоксическим эффектом к 14-му дню беременности, который характеризуется ростом предимплантационной гибели до 98-99 % при скрещивании на 4-й (кишечная стадия), 10-й (миграционная стадия) и 21-й (мышечная стадия) дни после заражения. Эмбриотоксический эффект также наблюдается при заражении самок после скрещивания. Так, при заражении мышей инвазионными личинками трихинелл на 1-й и 10-й дни беременности, повышается предимплантационная гибель в 12 и 6 раз и постимплантационная смертность в 5,6 и 5 раз на 4-й (кишечная стадия) и 14-й (миграционная стадия) дни опыта. При заражении до или после наступления беременности предимплантационная гибель увеличивалась за счет уменьшения количества мест имплантаций и общего числа эмбрионов. Возрастание постимплантационной гибели при заражении трихинеллами на 1-й и 10-й дни беременности происходило за счет увеличения числа мертвых эмбрионов в 4 и 2,6 раза и числа резорбций в 11 и 6 раз. Эмбриотоксический эффект трихинелл также характеризовался уменьшением средней массы эмбрионов и краниокаудального размера в 1,07 – 1,60 раза по отношению к контрольным показателям. Показано, что внутрибрюшинное введение самкам крыс БСЭСП личинок *T. spiralis* с 5-го по 8-й дни беременности (ранний период формирования эмбрионов) сопровождается эмбриотоксическим эффектом к 19-му дню беременности, который характеризуется ростом постимплантационной гибели в 6,4 раза и уменьшением средней

массы эмбрионов в 1,5 раза, среднего краниокаудального размера в 1,3 раза. При введении крысам БСЭСП личинок *T. spiralis* с 9-го по 12-й дни беременности в позднем периоде развития эмбрионов наблюдаются рост постимплантационной гибели в 10 раз по сравнению с контролем; увеличение средней массы эмбрионов в 4 раза, среднего краниокаудального размера в 1,19 раза. Внутривбрюшинные инъекции животным БСЭСП личинок *T. spiralis* с 13-го по 15-й дни беременности (плодный период) показали увеличение постимплантационной гибели в 8,7 раз [111, 113].

Е. С. Пашинской в 2012 г. при исследовании антенатального повреждающего действия трихинелл, регистрируемого в постнатальном периоде жизни потомства самок крыс, выявило снижение численности потомства от инвазированных самок крыс – в 1,16 раз, массы тела новорожденных крысят как к 1-му дню после рождения, так и к 40-му дню опыта – в 1,62 и 1,73 раза соответственно по отношению к данным молодняка от контрольных самок, а также к повышению индекса гибели крысят в 13,83 раза по отношению к уровню интактного контроля [113].

* * *

Миграция личинок аскарид, трихинелл у мышевидных грызунов сопровождается эмбриотоксическим эффектом, который характеризуется ростом пред- и постимплантационной гибели зародышей, уменьшением средней массы эмбрионов и их краниокаудального размера. Трипсиновый, пепсиновый и α -химотрипсиновый ингибиторы из тканей *A. suum* и *A. lumbricoides* обладают эмбриотоксическим и тератогенным действиями, достоверно повышая число погибших эмбрионов мышевидных грызунов и вызывая рост числа зародышей с аномалиями развития. У сенсibilизированных беременных самок снижается масса тела, увеличиваются уровни смертности, вагинальных гемморагий, внутриматочных резорбций [163, 170]. У потомства самок золотистых хомяков и мышевидных грызунов зараженных кошачьими сосальщиками и трихинеллами наблюдается снижение его численности, уменьшение массы тела новорожденных, а также выживаемость потомства на 25-й день после родов.

ГЛАВА 5.

ПУТИ СНИЖЕНИЯ ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ, ЦИТОКСИЧЕСКИХ И ЭМБРИОТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ИНВАЗИЙ ГЕЛЬМИНТАМИ

5.1. Репарации ядерной ДНК, редукция апоптоза соматических и эмбриональных клеток, пред- и постимплантационную гибель зародышей у инвазированных до и после наступления беременности мышевидных грызунов при использовании комбинированной терапии гельминтозов

Изучение репарации ядерной ДНК, редукция апоптоза соматических и эмбриональных клеток, пред- и постимплантационную гибель зародышей у инвазированных до и после наступления беременности мышевидных грызунов при использовании комбинированной терапии было проведено при экспериментальных описторхозе, трихинеллезе, миграционном аскаридозе, висцеральном токсокарозе.

При проведении сочетанной терапии гельминтозов использовались следующие дозировки препаратов:

– **празиквантел** – однократно в дозе 70 мг/кг (терапия описторхоза);

– **альбендазол** – трехкратно в дозе 15 мг/кг (терапия трихинеллеза), в суточной дозе 12 мг/кг (терапия висцерального токсокароза) и однократно в дозе 12 мг/кг (терапия миграционного аскаридоза);

– **мебендазол** – трехкратно в дозе 75 мг/кг (терапия трихинеллеза), в суточной дозе 40 мг/кг (терапия висцерального токсокароза) и однократно в дозе 40 мг/кг (терапия миграционного аскаридоза);

– **пирантел памоат** – однократно в дозе 10 мг/кг (терапия миграционного аскаридоза);

– **ниперазин адипат** – однократно в дозе 12 мг/кг (терапия миграционного аскаридоза);

– **хифенодина гидрохлорид** (фенкарол) в суточной дозе 1 мг/кг (терапия висцерального токсокароза) и трехкратно в дозе 0,5 мг/кг (терапия трихинеллеза);

– **ибупрофен** – в суточной дозе 30 мг/кг (терапия описторхоза, трихинеллеза, миграционного аскаридоза, висцерального токсокароза);

– **витамины** трехкратно в дозировках β -каротина – 6 мг/кг, токоферола ацетата – 80 мг/кг, аскорбиновой кислоты – 200 мг/кг, Se – 20 мкг/кг (терапия описторхоза, трихинеллеза, миграционного аскаридоза, висцерального токсокароза).

Лекарственные средства разводили до нужной концентрации в 2 % крахмальном геле и вводили животным внутривентрально при помощи туберкулинового шприца с железной оливой на конце иглы.

После терапии экспериментальных гельминтозов выделяли матки с эмбрионами и определяли количество желтых тел, мест имплантации, общее количество эмбрионов, число живых и мертвых эмбрионов, количество резорбций, среднюю массу эмбрионов и средний краниокаудальный размер. Эмбриотоксические изменения определяли с учетом рекомендаций Р.У. Хабриева и соавт., Б.И. Любимова и соавт. по экспериментальному (доклиническому) изучению репродуктивной токсичности новых фармакологических веществ [100, 129]. Основными показателями эмбриотоксичности считали предимплантационную гибель (разность между количеством желтых тел в яичниках и количеством мест имплантаций в матке) и постимплантационную смертность (разность между количеством мест имплантаций и количеством живых плодов). Проводили метод “ДНК-комет”. Рассчитывали среднюю арифметическую и ее стандартное отклонение ($M+SD$). Достоверность выявленных различий определяли по t -критерию Стьюдента. Полученные данные по генотоксическому, цитотоксическому и эмбриотоксическому эффектам у эмбрионов опытных групп сравнивались с показателями интактного контроля и данными чистой инвазии.

В 2014 г. Д.К. Кужелем, В.В. Зориной и соавт. [90] был разработан эффективный способ защиты генома хозяина и его эмбрионов с применением специфической, патогенетической и антиоксидантной терапии экспериментального описторхоза самок золотистых хомяков при беременности. Исследования проводили на 90 самках золотистых хомяков 4-5 месячного возраста массой 60-80 г. Животных разделяли на две группы: первая – контроли на введение препаратов и вторая – лечение экспериментального описторхоза. В

первую группу входило 4 подгруппы по 10 животных в каждой: интактный контроль; контроль на введение празиквантеля; контроль на введение празиквантеля с ибупрофеном; контроль на введение празиквантеля с ибупрофеном и комплексом витаминов с селеном. Во вторую группу входило 5 подгрупп: интактный контроль; чистая инвазия (заражённые нелеченные животные) и 3 опытные (лечение только празиквантелом, лечение празиквантелом с ибупрофеном; лечение празиквантелом с ибупрофеном и комплексом витаминов с селеном). Для заражения животных вводили внутрижелудочно жизнеспособных метацеркариев *O. felineus* из расчета 2 метацеркария на 1 г массы тела. На 30-й день от наступления инвазии проводили скрещивание животных опытных групп. На 19-й день беременности животных всех групп умерщвляли путём декапитации под эфирным наркозом, после проведенных схем терапии.

В результате проведенных исследований были получены объективные данные, которые отражают процессы негативного воздействия инвазии кошачьим сосальщиком на эмбриогенез у самок золотистых хомяков, а также гено- и цитотоксическое воздействие на клетки их эмбрионов. Установлены цито-, гено- и эмбриотоксические изменения в эмбриогенезе при терапевтическом воздействии лекарственных препаратов, применяемых при лечении экспериментального описторхоза.

Было выявлено, что в группе животных контроль на введение препаратов наибольший генотоксический эффект наблюдался при введении одного празиквантеля. Основной показатель генотоксичности – “Момент хвоста комет” в 2,8 раза превышал аналогичные данные контрольной группы, что характеризуется высоким ростом щелочно-лабильных сайтов и количеством одноцепочечных разрывов ядерной ДНК. При этом процент апоптотических клеток находился на уровне показателей группы контроля. Введение животным празиквантеля совместно с ибупрофеном снижает генотоксический эффект самого антигельминтика и уменьшает уровень апоптотических клеток. Показатели эмбриотоксичности также находились на самом высоком уровне при использовании одного празиквантеля. Трёхкратное введение ибупрофена значительно снижало эмбриотоксический эффект антигельминтика, но достигнуть показателей контрольной

группы не удалось. Используя сочетание празиквантел (однократно), ибупрофен (трёхкратно) и комплекс витаминов с селеном (трёхкратно) уровень генотоксического воздействия антигельминтика полностью элиминировать не смогли, но уровень апоптотических клеток снизился на 37,5 % по сравнению с показателем группы контроля.

Анализируя полученные показатели в опытной группе животных наблюдали максимально выраженный генотоксический эффект на клетки эмбрионов при терапии экспериментального описторхоза одним антигельминтиком. Основной показатель генотоксичности – “момент хвоста комет” в 14,3 раза превышал значение аналогичного показателя в группе интактного контроля и в 1,6 раза был выше, чем в группе чистой инвазии.

В группе животных, пролеченных празиквантелом в сочетании с ибупрофеном, мы наблюдаем значительное снижение показателей генотоксичности и цитотоксичности. Это можно объяснить противовоспалительным эффектом ибупрофена, который улучшает микроциркуляцию сосудов, снижает высвобождение из клеток медиаторов воспаления и подавляет энергообеспечение воспалительного процесса. Основной показатель эмбриотоксичности – “уровень предимплантационной гибели” снижается в 1,6 раза по сравнению с опытной группой животных, получавших монотерапию празиквантелом, при этом уровень постимплантационной гибели остаётся на очень высоком уровне.

При лечении экспериментального описторхоза у беременных самок золотистых хомяков третьей опытной группы по схеме: празиквантел (однократно), ибупрофен (трёхкратно) и комплекс витаминов С, Е, β-каротин с селеном (трёхкратно) был получен максимально выраженный положительный эффект терапевтического воздействия на эмбриональном уровне. Генотоксический эффект инвазии на клетки эмбрионов уменьшился в 8,7 раза по сравнению с первой опытной группой (монотерапия празиквантелом) и лишь в 1,6 раза превышал показатель интактного контроля. Показатель цитотоксического эффекта инвазии оказался ниже на 33,3 %, чем в группе интактного контроля и почти в 19 раз меньше по сравнению с группой, прошедшей терапию только празиквантелом. Основной показатель эмбриотоксичности – “уровень предимплантационной

гибели” в этой группе стал в 4,4 раза ниже, чем в группе чистой инвазии и в 2,7 раза меньше по отношению к первой опытной группе (монотерапия празиквантелом) [90].

Е.С. Пашинской и В.Я. Бекишем [112] проводились исследования по разработке способа защиты генома хозяина и его эмбрионов при применении специфической, патогенетической и антиоксидантной терапии экспериментального трихинеллеза при беременности животных. Исследования выполнялись на 160 беременных самках белых беспородных крыс, которых разделили на 16 групп по 10 животных в каждой для проведения двух серий опыта.

В первой серии опыта использовали самок крыс 1-ой, 2-ой, 3-ей, 4-ой, 5-ой групп – контроли на введение препаратов. Животным 1-ой группы (интактный контроль) вводили трехкратно внутрижелудочно 0,2 мл 2 % крахмального геля, 2-ой группы – альбендазол, 3-ей группы – мебендазол, животным 4-ой и 5-ой групп вводили трехкратно один из антигельминтиков в сочетании с трехкратным введением ибупрофена, фенкарولا и комплекса витаминов с Se с первого дня беременности.

Вторую серию опыта проводили на самках крыс 6-й – 16-й групп. Всех животных заражали культурой личинок *T. spiralis* в дозе 15 личинок на 1 г массы тела животного с первого дня беременности. Далее проводили терапию экспериментального трихинеллеза с 16-го по 18-ый дни беременности следующим образом: 6-ая группа терапию не получала (чистая инвазия); 7-ой группе вводили перорально альбендазол; 8-ой – мебендазол; 9-ой и 10-ой – один из антигельминтиков с фенкаролом; 11-ой – альбендазол с ибупрофеном; 12-ой – мебендазол с ибупрофеном; 13-ой – альбендазол с ибупрофеном и фенкаролом; 14-ой – мебендазол с ибупрофеном и фенкаролом; 15-ой – альбендазол с ибупрофеном, фенкаролом и комплексом витаминов с Se; 16-ой – мебендазол с ибупрофеном, фенкаролом и комплексом витаминов с Se.

При введение альбендазола или мебендазола как в отдельности, так и в сочетании с ибупрофеном, фенкаролом и комплексом витаминов с Se не инвазированным беременным крысам не показало достоверных отличий показателей гено- и цитотоксичности в клетках костного мозга самок крыс и их эмбрионов от результатов интактного контроля. При сравнении результатов зараженных нелеченных

животных с данными группы интактного контроля было установлено достоверное повышение всех показателей гено- и цитотоксичности. Так в клетках костного мозга самок крыс “момент хвоста” увеличился в 58,5 раза, процент апоптотических клеток в 10,7 раза по отношению к данным интактного контроля. Терапия экспериментального трихинеллеза одним из противопаразитарных средств с ибупрофеном, фенкаролом и комплексом витаминов с селеном показало наилучший результат. Все показатели гено- и цитотоксичности достигли уровня интактного контроля. Анализ уровней эмбриотоксичности показал, что введение антигельминтиков как в отдельности, так и в сочетании с ибупрофеном, фенкаролом и витаминным комплексом с селеном не инвазированным беременным животным не приводит к достоверным изменениям по сравнению с интактным контролем. В свою очередь, применение для терапии альбендазола привело к увеличению предимплантационной гибели (21,9 %) и постимплантационной смертности (в 25 раз – 50,1 %) в сравнении не только с интактным контролем, но и с группой “чистой инвазии”. Трехкратная терапия мебендазолом зараженных беременных самок крыс также показала увеличение показателей эмбриотоксичности. Было отмечено, что предимплантационная гибель превысила уровень, который выявлен при применении альбендазола (33,3 %), но постимплантационная смертность была немногим ниже – 26,9 %. Все данные достоверно превышали уровни группы интактного контроля и “чистой инвазии”. При введении сочетаний антигельминтика с ибупрофеном, фенкаролом и комплексом витаминов с селеном никаких отличий уровней эмбриотоксичности от животных группы интактного контроля не выявлено [112].

Нами были изучены изменения в геноме самок и их эмбрионов при использовании специфической, патогенетической и антиоксидантной терапии висцерального токсокароза во время беременности животных [66]. Для исследования использовали 35 беременных самок крыс линии Wistar, которые были разделены на 7 подгрупп по 5 животных в каждой в зависимости от вводимых препаратов и их комбинаций. Первая подгруппа служила интактным контролем и получала однократно внутрижелудочно 2 % крахмальный гель в объёме 0,2 мл. Остальные подгруппы включала 30 животных, заражённых на 1-й день беременности в дозе 20 инвазионных яиц *T. canis* на 1 г массы тела и пролеченных с 4-го по

13-й дни от заражения. Инвазированные животные были разделены на следующие подгруппы по 5 крыс в каждой: чистая инвазия – 2-я; лечение инвазии альбендазолом или мебендазолом в течение 10 дней – 3, 4-я; одним из антигельмитиков в течение 10 дней в сочетании с фенкоролом (5 дней) и далее ибупрофеном (5 дней) вместе с комплексом витаминов с Se (10 дней) – 5, 6-я; лечение инвазии мебендазолом сочетано с фенкоролом (5 дней) и далее терапия альбендазолом вместе с ибупрофеном (5 дней) и комплексом витаминов с Se (10 дней) – 7-я.

Полученные результаты щелочного гель-электрофореза изолированных клеток в контрольной интактного контроля, зараженных и нелеченных животных, а также в подгруппах получавших терапию висцерального токсокароза на с 4-го по 13-й дни беременности отображены на рисунках 5.1–5.4.

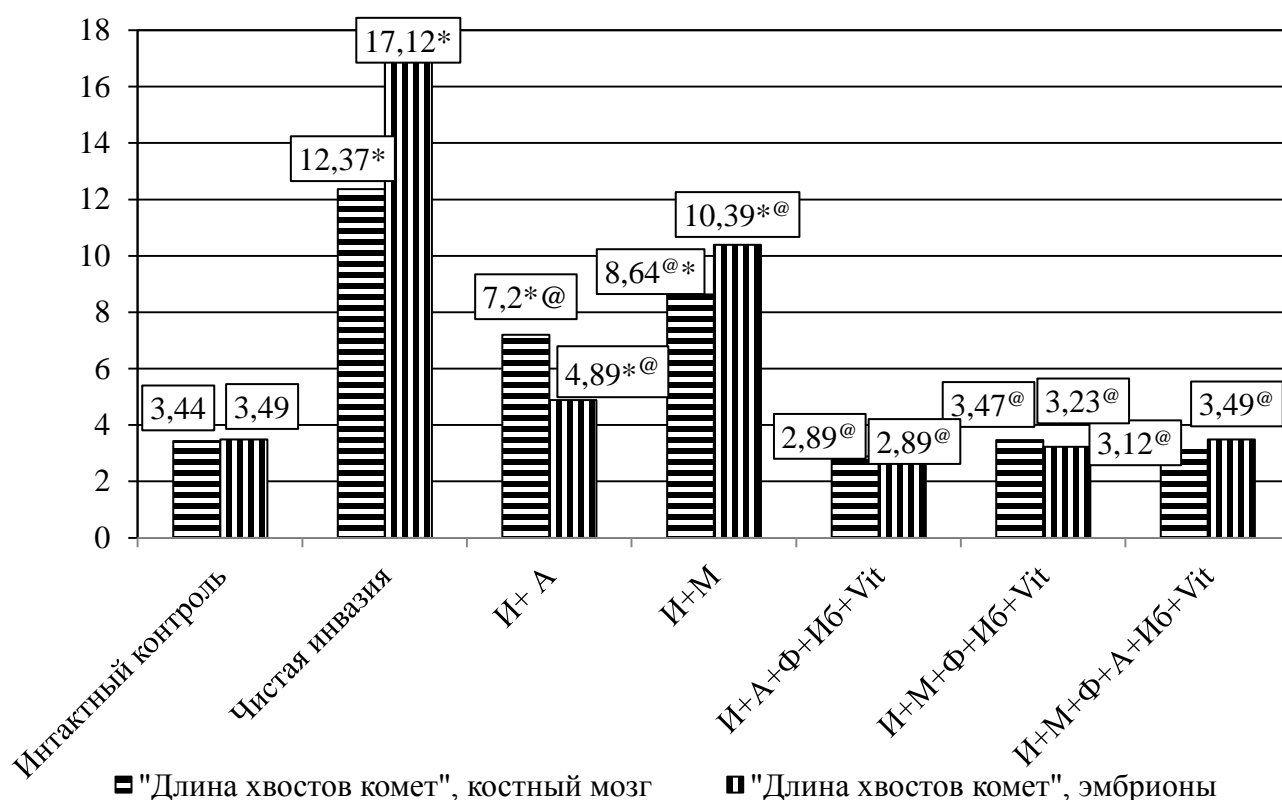


Рис. 5.1. "Длина хвостов комет" в костном мозге самок крыс линии Wistar и их эмбрионов при терапии висцерального токсокароза антигельминтиком – альбендазол (А), мебендазол (М), фенкоролом (Ф), ибупрофеном (Иб) и комплексом витаминов С, Е, β-каротин с Se (Vit) и их сочетаниями со 2-го по 13-й дни беременности (14-й день инвазии).

Примечание: * – достоверное отличия от данных интактного контроля, @ – от данных чистой инвазии при $P < 0,01-0,05$.

У животных, инвазированных токсокарами и не получавших лечение, в костном мозге самок и клетках эмбрионов достоверно повышались все показатели генотоксичности и цитотоксичности. Так, в клетках костного мозга, показатель “длины хвостов комет” в 3,6 раза превысил контрольный показатель, а процент ДНК в “хвостах комет” – в 10,1 раза. Основной показатель генотоксичности – превысил интактный контроль в 53 раза, а цитотоксичности – в 2,9 раза.

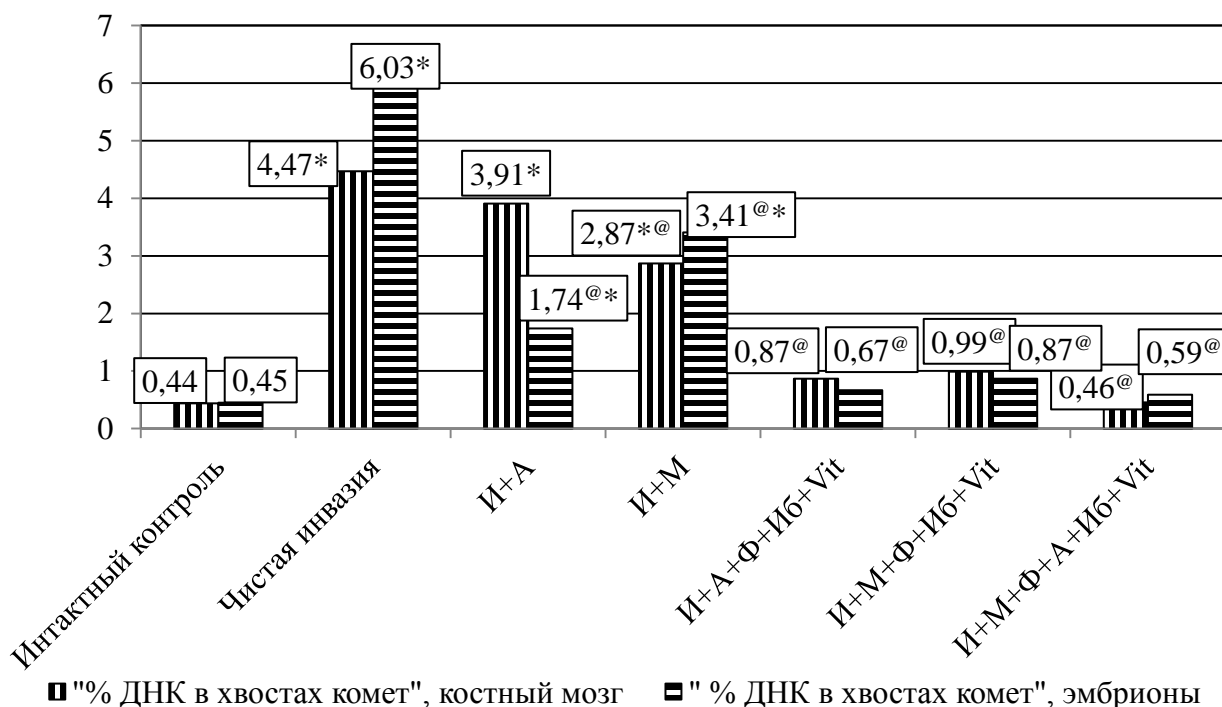


Рис. 5.2 Процент ДНК в “хвостах комет” в костном мозге самок крыс линии Wistar и их эмбрионов при терапии висцерального токсокароза антигельминтиком – альбендазол (А), мебендазол (М), фенкоролом (Ф), ибупрофеном (Иб) и комплексом витаминов С, Е, В, каротин с Se (Vit) и их сочетаниями со 2-го по 13-й дни беременности (14-й день инвазии)
Примечание: * – достоверное отличия от данных интактного контроля, @ – от данных чистой инвазии при $P < 0,01-0,05$.

В клетках эмбрионов показатели генотоксичности (“длина хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет”) превышали достоверно данные интактного контроля в 4,9 и 13,4 раза соответственно. Показатель “момента хвоста комет” превысил контрольный в 79,5 раза. Процент апоптотических клеток возрос в 1,4 раза в сравнении с контролем.

При применении одного альбендазола в течение десяти дней, все показатели генотоксичности и цитотоксичности достоверно изменялись. В клетках костного мозга показатель “длины хвостов

комет” в 2,1 раза превысил контроль, но в 1,7 раза оказался ниже показателя чистой инвазии. Процент ДНК в “хвостах комет” достоверно выше контроля в 8,9 раз. Основной показатель генотоксичности снизился по отношению к данным чистой инвазии в 3,9 раза, но превысил контрольный показатель в 13,5 раз. Показатель цитотоксичности превысил контроль в 5,3 раза, а показатель чистой инвазии в 1,8 раз.

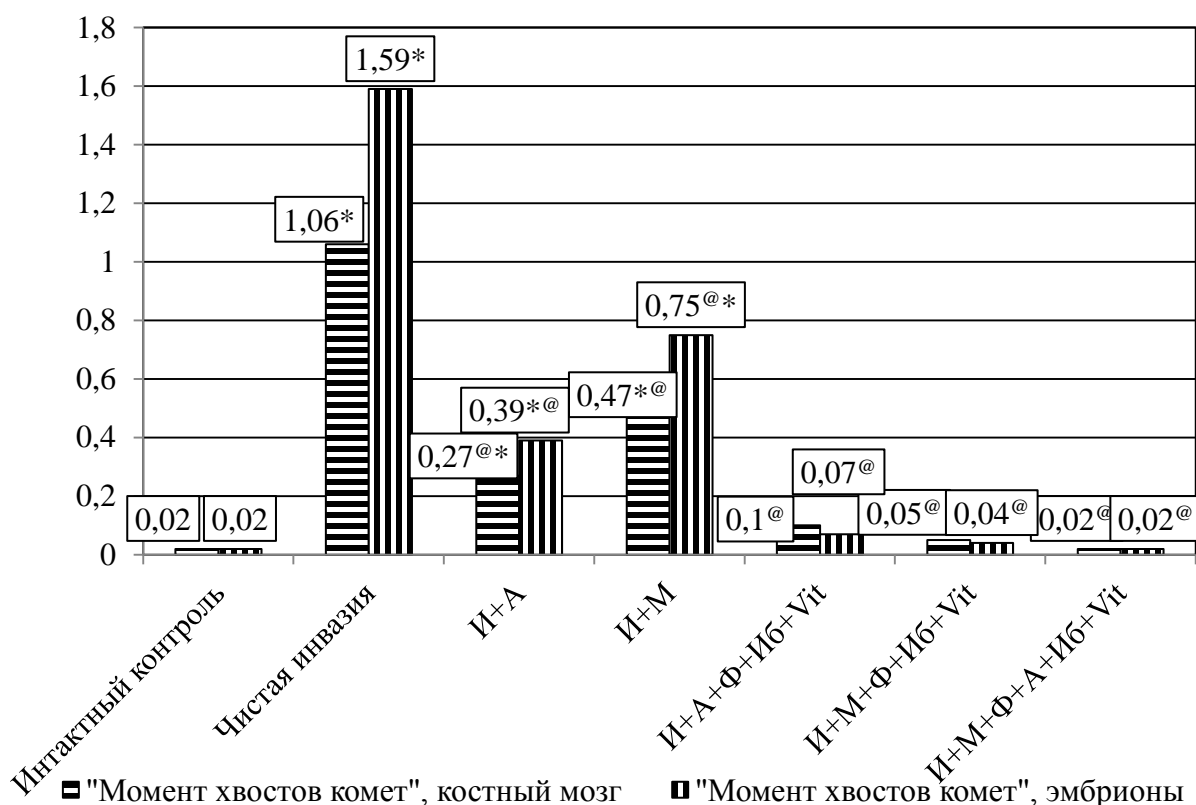


Рис. 5.3. “Момент хвостов комет” в костном мозге самок линии Wistar и их эмбрионов при терапии висцерального токсокароза антигельминтиком – альбендазол (А), мебендазол (М), фенкоролом (Φ), ибупрофеном (Иб) и комплексом витаминов С, Е, β-каротин с селеном (Vit) и их сочетаниями со 2-го по 13-й дни беременности (14-й день инвазии).
Примечание: * – достоверные отличия от данных интактного контроля, @ – от данных чистой инвазии при $P < 0,01-0,05$.

В клетках эмбрионов все показатели изменялись достоверно от данных до лечения и контрольных величин. Показатель “длины хвостов комет” превысил контроль в 1,4 раза, но был достоверно ниже данных чистой инвазии в 3,5 раз. Процент ДНК в “хвостах комет” стал ниже показателя до лечения в 3,5 раз, но превысил контрольный показатель в 3,9 раз. “Момент хвоста комет” снизился по сравнению с чистой инвазией в 4,1 раза, но превысил контроль в 19,5 раз. Процент апоптотических клеток возрос по сравнению с

данными чистой инвазии и контрольным показателем в 4,3 раза и 6,1 раза соответственно.

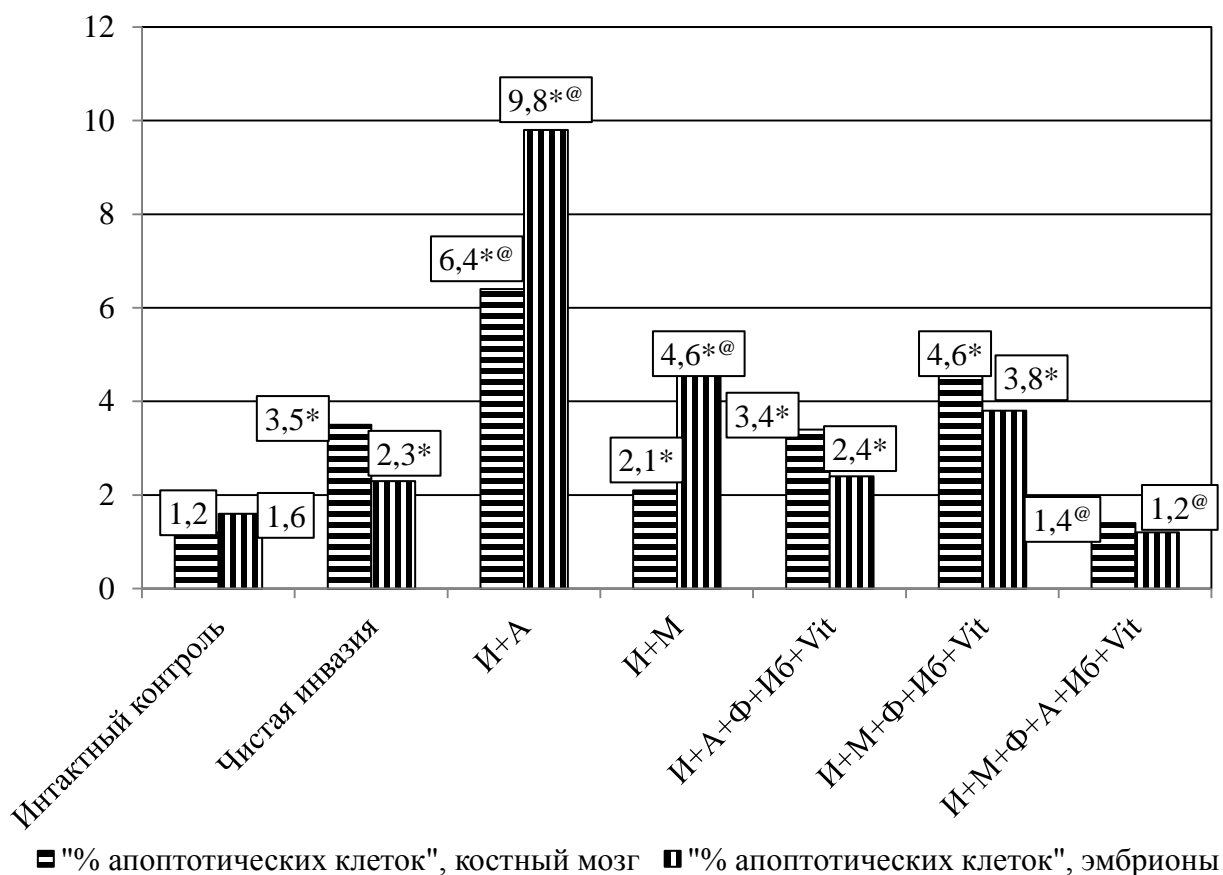


Рис. 5.4. Процент апоптотических клеток в костном мозге самок крыс линии Wistar и их эмбрионов при терапии висцерального токсокароза антигельминтиком – альбендазолом (А), мебендазолом (М), фенкоролом (Ф), ибупрофеном (Иб) и комплексом витаминов С, Е, В-каротин с селеном (Vit) и их сочетаниями со 2-го по 13-й дни беременности (14-й день инвазии).

Примечание: * – достоверные отличия от данных интактного контроля, [@] – от данных чистой инвазии при $P < 0,01-0,05$.

Применение одного мебендазола привело к достоверным изменениям по всем исследуемым показателям. В клетках костного мозга показатель “длины хвостов комет” составил $8,64 \pm 1,65$, что превысило контроль в 2,5 раза, но снизился в 1,43 раза по отношению к данным чистой инвазии. Процент ДНК в “хвостах комет” снизился достоверно относительно показателя чистой инвазии в 1,55 раза, но был выше данных контроля в 6,5 раз. Основной показатель генотоксичности достоверно превысил контрольный в 23,5 раза, но оказался ниже данных чистой инвазии в 2,3 раза. Показатель

цититоксичности в 1,75 раза превысил контрольный показатель, но в 1,6 раза оказался ниже чистой инвазии.

В клетках эмбрионов показатель “длины хвостов комет” превысил данные интактного контроля в 2,9 раза, но был достоверно ниже данных чистой инвазии в 1,65 раза. Процент ДНК в “хвостах комет” превысил контроль в 7,5 раза, но стал ниже данных чистой инвазии в 1,8 раз. “Момент хвоста комет” снизился по сравнению с чистой инвазией в 2,1 раза, но превысил контроль в 37,5 раз. Процент апоптотических клеток возрос по сравнению с данными контроля и чистой инвазии в 2,9 раза и 2 раза соответственно.

Сочетанная терапия альбендазолом (10 дней), фенкаролом (5 дней), ибупрофеном (5 дней) и комплексом витаминов (10 дней) выявили достоверные изменения по всем показателям генотоксичности в данных чистой инвазии, и в показателях цитотоксичности от контрольных величин. Так, в клетках костного мозга показатель “длины хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет” достоверно были ниже данных нелеченных животных в 4,2 и 5,1 раза соответственно. Основной показатель генотоксичности снизился в 10,6 раза по отношению к данным чистой инвазии. Процент апоптотических клеток возрос по сравнению с данными контроля в 2,8 раза.

В эмбриональных клетках наблюдались такие же изменения. Показатель “длины хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет” были достоверно ниже данных чистой инвазии в 5,9 и 9 раз соответственно. “Момент хвоста комет” снизился по сравнению с чистой инвазией в 22,7 раза. Показатель цитотоксичности возрос по отношению к контрольному показателю в 1,5 раза.

Сочетанная терапия мебендазолом (10 дней), фенкаролом (5 дней), ибупрофеном (5 дней) и комплексом витаминов (10 дней) выявила достоверные изменения исследуемых показателей генотоксичности от данных чистой инвазии, и цитотоксичности от контрольных величин. Так, в клетках костного мозга показатель “длины хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет” были достоверно ниже данных чистой инвазии в 3,6 и 4,5 раз соответственно. Основной показатель генотоксичности снизился в 21,2 раза по отношению к показателю у зараженных нелеченных животных. Процент апоптотических клеток возрос в 1,3 раза по сравнению с контрольными показателями, но достоверно не отличался от данных чистой инвазии.

В клетках эмбрионов показатель “длины хвостов комет” составил $3,23 \pm 0,19$, что в 5,3 раза достоверно ниже показателя чистой инвазии и не отличается от контрольных величин. Процент ДНК в “хвостах комет” снизился в 6,9 раз по отношению к показателю чистой инвазии. “Момент хвоста комет” снизился в 39,8 раз по отношению к нелеченым животным, и не отличался достоверно от данных контроля. Показатель цитотоксичности достоверно, в 1,6 раза возрос в отношении контрольного показателя и достоверно не отличался от показателя чистой инвазии.

Сочетанная терапия мебендазолом с фенкаролом (5 дней), альбендазола с ибупрофеном (5 дней) и комплексом витаминов (10 дней) выявила достоверные изменения всех показателей от данных чистой инвазии. Так, в клетках костного мозга показатель “длины хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет” были достоверно ниже данных чистой инвазии в 4 и 9,7 раз соответственно. Основной показатель генотоксичности достоверно снизился в 53 раза, а цитотоксичности – в 2,5 раза.

В клетках эмбрионов все исследуемые показатели достоверно снизились по отношению к данным чистой инвазии. Показатель “длины хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет” были ниже данных чистой инвазии в 4,9 и 10,2 раза соответственно. Показатель “момента хвоста комет” снизился в 79,5 раз по отношению к нелеченым животным, а процент апоптотических клеток – в 1,9 раза.

Таким образом, применение только одного из антигельминтиков в течение 10 дней не приводило к снижению “момента хвоста” и числа апоптотических клеток в костном мозге самок и их эмбрионов у зараженных животных, что указывало на сохранение генотоксических и цитотоксических эффектов инвазии личинками токсокар. Кроме того, процент апоптотических клеток при терапии альбендазолом в 2-3 раза достоверно превышал данные чистой инвазии, что указывало на усиление цитотоксических эффектов в костном мозге и клетках эмбрионов зараженных и пролеченных крыс. Применение для лечения висцерального токсокароза антигельминтика (мебендазол или альбендазол) в комбинации с фенкаролом (5 дней), ибупрофеном (5 дней) и комплексом витаминов С, Е, β -каротин с селеном устраняло генотоксический эффект инвазии как в клетках костного мозга самок, так и в эмбриональных клетках. Уровни ППЯ ДНК не отличались от показателей интактного

контроля. Однако показатели цитотоксичности у животных достоверно превышали данные неинвазированных животных. Наиболее лучший результат был получен при применении сначала мебендазола с фенкаролом (5 дней) и далее альбендазола с ибупрофеном (5 дней) в сочетании с комплексом витаминов С, Е, В-каротин с селеном. При использовании данной комбинации препаратов “длина хвостов комет”, процент поврежденной ДНК в “хвостах комет”, “момент хвоста комет”, процент апоптотических клеток в костном мозге самок и эмбрионов достоверно не отличались от уровней интактного контроля, что указывало на полное устранение генотоксических и цитотоксических эффектов при инвазии личинками токсокар.

Нами были изучены изменения в геноме самок и их эмбрионов, а так же эмбриотоксичность при использовании специфической, патогенетической и антиоксидантной терапии миграционного аскаридоза методом ДНК-комет [60, 150].

Для исследования использовали 220 беременных самок мышей линии СВА, которых разделяли на две группы.

Первая группа включала 90 мышей и была контролем на введение препаратов. Она состояла из девяти подгрупп по 10 животных в каждой, которые были выделены в зависимости от вводимых препаратов и их комбинаций. Первая подгруппа служила интактным контролем и получала однократно внутрижелудочно 2 % крахмальный гель в объеме 0,2 мл. Мышам второй, третьей, четвертой и пятой подгрупп однократно вводили альбендазол, мебендазол, пирантел или пиперазин на 11-й день беременности. Шестая, седьмая, восьмая и девятая группы получали однократно один из антигельминтиков в сочетании с трехкратным введением ибупрофена с комплексом витаминов с Se с 11-го по 13-й дни беременности. Животных умерщвляли на 14-й день беременности.

Вторая группа включала 130 мышей, зараженных на 10-й день беременности в дозе 20 инвазионных яиц *A. suum* на 1 г массы тела и пролеченных на миграционной стадии инвазии с 11-го по 13-го дни от заражения. Инвазированные животные были разделены на тринадцать подгрупп по 10 мышей в каждой: чистая инвазия (1-я), лечение инвазии альбендазолом, мебендазолом, пирантелом или пиперазином (2, 3, 4, 5-я), одним из антигельминтиков в сочетании с

ибупрофеном (6, 7, 8, 9-я), одним из антигельмитиков в сочетании с ибупрофеном и комплексом витаминов с Se (10, 11, 12, 13-я).

Введение альбендазола не привело к достоверному изменению генотоксических и цитотоксических показателей как в клетках костного мозга, так и в клетках эмбрионов. При введении мебендазола контрольным животным, в клетках костного мозга длина “хвостов комет” в 2,08 раза и процент ДНК в “хвостах комет” в 1,85 раза достоверно превысили уровень интактного контроля. “Момент хвоста” достоверно возрос в 3,22 раза. Показатель процента апоптотических клеток не изменился. В клетках эмбрионов также произошли достоверные изменения показателей. Не изменился только процент апоптотических клеток. Так, показатели длины “хвостов комет” и процента ДНК в “хвостах комет” возросли в 1,37 и 2,24 раза соответственно. “Момент хвоста” в 2,81 раза превысил показатель интактного контроля. Введение пирантела памоата привело к достоверным изменениям. Длина “хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет” достоверно увеличились в 2,02 и 1,65 раза соответственно. “Момент хвоста” комет достоверно превысил уровень интактного контроля в 2 раза. Показатель процента апоптотических клеток достоверно не изменился. В клетках эмбрионов достоверно возрос показатель процента ДНК в “хвостах комет” в 1,61 раза. “Момент хвоста” комет достоверно, в 1,91 раза превысил контроль. При введении пиперазина достоверных изменений в клетках костного мозга и клетках эмбрионов не наблюдалось. Комплексное введение используемых антигельминтиков с ибупрофеном и витаминами не выявило достоверных отличий от интактного контроля как в клетках эмбрионов, так и в костном мозге самок-мышей. Лишь при введении пирантела памоата с ибупрофеном и комплексом витаминов наблюдалось достоверное увеличение длины “хвостов комет” в 1,27 раза по сравнению с контролем.

У зараженных нелеченных животных все показатели генотоксичности и цитотоксичности достоверно изменялись. В клетках костного мозга длина “хвостов комет” увеличилась в 3,99 раза и процент ДНК в “хвостах комет” – в 5,66 раза достоверно возросли по сравнению и показателями интактного контроля. “Момент хвоста” в 8,77 раза превысил контроль. Процент

апоптотических клеток достоверно, в 9,2 раза, вырос по сравнению с контролем. В клетках эмбрионов исследуемые длина “хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет” достоверно возросли в 3,35 и 3 раза соответственно. “Момент хвоста” увеличился в 8,73 раза. Процент апоптотических клеток в 8,5 раз достоверно превысил уровень интактного контроля. При оценке эффективности экспериментального аскаридоза сравнивали исследуемые показатели с данными интактного контроля и чистой инвазии. При введении одного из антигельминтиков все показатели достоверно изменялись.

При терапии альбендазолом в клетках костного мозга самок длина “хвостов комет” увеличилась в 4,91 раза, процент ДНК в “хвостах комет” возрос в 4,45 раза. “Момент хвоста” в 8,11 раза превысил показатель интактного контроля. Процент апоптотических клеток увеличился в 7,6 раз по сравнению с контролем. В клетках эмбрионов длина “хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет” достоверно возросли в 2,27 и 3,29 раза соответственно. “Момент хвоста” увеличился в 9,1 раза. Процент апоптотических клеток возрос достоверно в 4,75 раза. Терапия мебендазолом вызвала достоверные изменения показателей. В клетках костного мозга длина “хвостов комет” в 5,31 раза превысила контроль. Показатель процента ДНК в “хвостах комет” возрос по сравнению с контролем в 8,28 раз, а с чистой инвазией в 1,46 раза. Показатель “момента хвоста” также достоверно возрос по сравнению с интактным контролем и чистой инвазией в 15 и 1,71 раза соответственно. Процент апоптотических клеток достоверно возрастал по сравнению с контролем и чистой инвазией в 12,2 и 1,33 раза соответственно. В клетках эмбрионов длина “хвостов комет” составила $19,70 \pm 2,63$, что достоверно превысило показатель интактного контроля в 4,02 раза и чистой инвазии – в 1,2 раза. Процент ДНК в “хвостах комет” также достоверно увеличился в 1,39 и 4,16 раз по сравнению с данными чистой инвазии и контроля соответственно. “Момент хвоста” возрос достоверно по отношению к контролю в 14,28 раз, и к чистой инвазии в 1,64 раза. Процент апоптотических клеток составил $7,50 \pm 1,51$, что достоверно выше показателя интактного контроля в 9,38 раз. При введении пирантела памоата длина “хвостов комет” в клетках костного мозга мышей-самок составила $21,50 \pm 9,37$, что достоверно выше показателя интактного контроля в 5,8 раз. Процент ДНК в

“хвостах комет” превышал показатель интактного контроля в 7 раз. “Момент хвоста” возрос достоверно по отношению к контрольному показателю в 16,3 раз. Процент апоптотических клеток в 7,8 раз достоверно превышал данный показатель у интактного контроля. При исследовании этих показателей в клетках эмбрионов было установлено, что длина “хвостов комет” превышала достоверно показатель контроля в 3,47 раза. Показатель процента ДНК в “хвостах комет” достоверно превышал показатели чистой инвазии и интактного контроля в 1,64 и 4,92 раза соответственно. “Момент хвоста” комет достоверно возрос по отношению к интактному контролю в 15,1 раза. Процент апоптотических клеток превышал показатель контроля в 7,75 раз. У инвазированных мышей, получавших терапию пиперазином, все исследуемые показатели отличались от контрольных. Так, в клетках костного мозга самок длина “хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет” достоверно превышали показатели интактного контроля в 4,99 и 5,2 раза соответственно. Показатель “момента хвоста” превышал контрольный в 11,2 раза. Процент апоптотических клеток достоверно превышал контроль в 9,2 раза. В клетках эмбрионов также наблюдались изменения. Длина “хвостов комет” в 3,7 раза, и процент ДНК в “хвостах комет” в 3,7 раза достоверно превысили показатели интактного контроля. “Момента хвоста” комет превысил данные контроля в 11,8 раз. Показатель процента апоптотических клеток составил $6,40 \pm 0,52$, и достоверно превысил контрольный в 8 раз.

При сочетанной терапии альбендазолом с ибупрофеном в клетках костного мозга самок показатель длины “хвостов комет” составил $14,00 \pm 1,70$, что достоверно превысило интактный контроль в 3,77 раза. Показатель процента ДНК в “хвостах комет” был достоверно ниже чистой инвазии в 1,41 раза, но превышал данные интактного контроля в 4,02 раза. “Момента хвоста” комет превысил контроль в 5,7 раза и составил $0,52 \pm 0,19$. Показатель процента апоптотических клеток в костном мозге самок достоверно был ниже данных чистой инвазии в 5,75 раза, но не отличался от данных контроля. В клетках эмбрионов длина “хвостов комет” была достоверно ниже чистой инвазии в 1,78 раз, но превышал показатель интактного контроля в 1,87 раза. Процент ДНК в “хвостах комет” достоверно превышал данные интактного контроля в 2,53 раза, но не отличался от данных

чистой инвазии. “Момент хвоста” комет был достоверно в 2,23 раза ниже чистой инвазии, но превышал показатель интактного контроля в 3,91 раза. Процент апоптотических клеток достоверно был выше данных чистой инвазии в 6,8 раз, но достоверно не отличался от данных контроля.

При терапии мебендазолом с ибупрофеном показатель длины “хвостов комет” в клетках костного мозга самок достоверно превышал показатель интактного контроля в 3,48 раз. Показатель процента ДНК в “хвостах комет” был достоверно ниже чистой инвазии в 1,47 раз, но превышал контроль в 3,85 раз. “Момент хвоста” комет составил $0,49 \pm 0,40$, и был выше показателя интактного контроля в 5,4 раза. Процент апоптотических клеток достоверно ниже чистой инвазии в 5,1 раза, и не отличался от контрольного показателя. В клетках эмбрионов также произошли изменения. Так, длина “хвостов комет” составила $7,90 \pm 1,45$, что в 2,08 раз достоверно ниже чистой инвазии, но в 1,61 раз превысило данные интактного контроля. Процент ДНК в “хвостах комет” в 2,9 раз достоверно выше показателя интактного контроля. Показатель “момента хвоста” комет достоверно ниже данных чистой инвазии в 2,28 раз, но превысил контрольный показатель в 3,82 раза. Процент апоптотических клеток был достоверно ниже показателя чистой инвазии в 9,7 раз, и не отличался от данных интактного контроля.

При сочетанной терапии пирантел памоата с ибупрофеном в клетках костного мозга самок при экспериментальном миграционном аскаридозе длина “хвостов комет” и показатель процента ДНК в “хвостах комет” достоверно изменились и превышали в 4,37 и в 5 раз показатели интактного контроля соответственно. В 8,5 раз показатель “момента хвоста” выше контрольного. Процент апоптотических клеток в 6,57 раз выше показателя чистой инвазии, но достоверно не отличался от контрольного показателя. Происходили также изменения в клетках эмбрионов. Длина “хвостов комет” составила $10,70 \pm 6,45$, что достоверно, в 2,18 раза выше показателя интактного контроля. Процент ДНК в “хвостах комет” в 3,52 раза достоверно превышал контрольный показатель, но не отличался от чистой инвазии. “Момент хвоста” составил $0,85 \pm 0,94$, что в 7,73 раза выше контроля. Процент апоптотических клеток достоверно отличался от чистой инвазии и был ниже ее в 6,18 раз.

При проведении терапии миграционного аскаридоза пиперазином с ибупрофеном в клетках костного мозга длина “хвостов комет” достоверно превысила контрольный показатель в 3,72 раза и составила $13,80 \pm 5,57$. Процент ДНК в “хвостах комет” был достоверно ниже чистой инвазии в 1,38 раза, но выше интактного контроля в 4,1 раза. “Момент хвоста” комет составил $1,24 \pm 0,36$, что в 13,7 раза достоверно выше контрольного уровня. Процент апоптотических клеток в клетках костного мозга самок составил $0,40 \pm 0,52$, что в 11,5 раза достоверно ниже данных чистой инвазии, но не отличается от интактного контроля. В клетках эмбрионов длина “хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет” достоверно превышали контрольные показатели в 2,45 и в 1,57 раз соответственно. Показатель “момента хвоста” в 10,64 раза был достоверно выше контрольного. Процент апоптотических клеток ниже чистой инвазии в 17 раз достоверно.

При сочетанной терапии альбендазолом, ибупрофеном и комплексом витаминов в клетках костного мозга длина “хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет” достоверно были ниже показателей чистой инвазии в 3,52 и в 3,7 раз соответственно. Показатель “момента хвоста” был в 5,64 раза достоверно ниже чистой инвазии. Процент апоптотических клеток составил $0,40 \pm 0,52$, что достоверно ниже показателя чистой инвазии в 11,5 раз. Все исследуемые показатели в клетках эмбрионов не отличались от соответствующих показателей интактного контроля. Так, длина “хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет” в 2,83 и 2,28 раз достоверно ниже показателей чистой инвазии. “Момент хвоста” составил $0,18 \pm 0,20$, что в 5,3 раза ниже показателя чистой инвазии. Процент апоптотических клеток в 17 раз ниже чистой инвазии и составил $0,40 \pm 0,52$.

При комплексной терапии мебендазолом, ибупрофеном и комплексом витаминов все исследуемые показатели как в клетках костного мозга, так и в клетках эмбрионов достоверно отличались только от чистой инвазии, и не отличались от интактного контроля. Длина “хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет” были достоверно ниже в 3,92 и в 4,02 раза соответственно. “Момент хвоста” ниже чистой инвазии в 8,7 раз. Процент апоптотических клеток достоверно ниже в 15,3 раза. В клетках эмбрионов длина

“хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет” были достоверно ниже в 2,73 и в 2,06 раза соответственно. “Момент хвоста” ниже чистой инвазии в 5,05 раз. Процент апоптотических клеток достоверно ниже в 13,6 раза.

При терапии пирантела памоатом, ибупрофеном и комплексом витаминов в клетках костного мозга длина “хвостов комет” превысила данные интактного контроля в 2,43 раза и составила $9,00 \pm 2,79$. Процент ДНК в “хвостах комет” оказался в 2 раза достоверно ниже чистой инвазии, но в 2,82 раза выше показателя интактного контроля. “Момент хвоста” достоверно ниже чистой инвазии в 3,29 раз, но выше в 2,6 раз показателя интактного контроля. Процент апоптотических клеток достоверно ниже показателя чистой инвазии в 9,2 раза, и не отличается от контрольного. При сочетанной терапии в клетках эмбрионов также наблюдались изменения. Так, длина “хвостов комет” была достоверно ниже чистой инвазии в 2,08 раза, но превышал показатель интактного контроля в 1,61 раз. Процент ДНК в “хвостах комет” достоверно в 2,94 раза выше контроля. “Момент хвоста” комет ниже чистой инвазии в 1,96, но превышал показатель интактного контроля в 4,45 раз. Процент апоптотических клеток составил $0,60 \pm 0,70$, что достоверно ниже данных чистой инвазии в 11,3 раза.

Комплексная терапия пиперазином, ибупрофеном и комплексом витаминов оказала влияние как на организм самки, так и на ее эмбрионы. В клетках костного мозга длина “хвостов комет” составила $11,80 \pm 3,16$, что достоверно превышает уровень интактного контроля в 3,19 раза. Процент ДНК в “хвостах комет” был достоверно ниже уровня чистой инвазии в 1,42 раза, но превышал контроль в 4 раза. “Момент хвоста” комет достоверно превышал контроль в 4,7 раза. Процент апоптотических клеток составил $0,50 \pm 0,53$, что в 9,2 раза достоверно ниже показателя чистой инвазии. В клетках эмбрионов показатель длины “хвостов комет” составил $4,34 \pm 1,23$, что достоверно ниже чистой инвазии в 3,78 раз, и интактного контроля в 1,13 раз. Процент ДНК в “хвостах комет” был достоверно ниже уровня чистой инвазии в 1,3 раз, но превышал контроль в 2,3 раза. “Момент хвоста” комет был достоверно ниже уровня чистой инвазии в 2,6 раз, но превышал контроль в 3,28 раз. Процент апоптотических клеток достоверно ниже данных чистой инвазии в 11,3 раза.

При проведении контрольных исследований на эмбрионах все показатели достоверно не отличались от данных интактного контроля.

Оценка данных чистой инвазии установила, что: показатели количества желтых тел, мест имплантации, общего количества эмбрионов и количества резорбций не отличались достоверно от данных интактного контроля. Количество живых эмбрионов составило $6,00 \pm 1,25$, что в 1,3 раза достоверно ниже контрольного показателя. Количество мертвых эмбрионов достоверно возросло в 18 раз. Средняя масса эмбрионов в помете снизилась в 1,5 раз, а средний краниокаудальный размер – в 1,2 раза. Предимплантационная гибель достоверно не изменялась и составила 5,81 %. Постимплантационная гибель достоверно возросла в 10,4 раза.

При терапии альбендазолом все исследуемые показатели не отличались достоверно как от данных интактного контроля, так и от данных чистой инвазии.

При лечении одним мебендазолом показатели количества желтых тел, мест имплантации, общего количества эмбрионов и количества резорбций достоверно не изменялись. Количество живых эмбрионов достоверно уменьшилось в 1,3 раза, а количество мертвых эмбрионов возросло в 14 раз достоверно. Показатель средней массы эмбрионов достоверно возрос по сравнению с чистой инвазией в 1,14 раза, но снизилась в 1,3 раза по сравнению с контролем. Средний краниокаудальный размер достоверно снизился в 1,2 раза. Предимплантационная гибель достоверно не изменилась и составила 3,66 %, а постимплантационная гибель достоверно увеличилась в 9,6 раза.

При введении пирантела памоата показатели количества желтых тел, мест имплантации, общего количества эмбрионов и количества резорбций достоверно не изменялись. Количество живых эмбрионов уменьшилось в 1,3 раза, а количество мертвых эмбрионов возросло в 18 раз достоверно. Показатель средней массы эмбрионов достоверно выше чистой инвазии в 1,2 раза, но ниже в 1,2 раза по сравнению с контролем. Средний краниокаудальный размер достоверно снизился в 1,2 раза. Предимплантационная гибель достоверно не изменилась, а постимплантационная гибель достоверно увеличилась в 11 раз.

При лечении пиперазином количество желтых тел, мест имплантации, общее количество эмбрионов и количество резорбций достоверно не изменялись. Количество живых эмбрионов достоверно уменьшилось в 1,4 раза, а количество мертвых эмбрионов возросло в 16 раз. Средняя масса эмбрионов составила $0,23 \pm 0,03$, что достоверно выше чистой инвазии в 1,1 раза, но ниже по сравнению с данными интактного контроля в 1,3 раза. Средний краниокаудальный размер составил $9,33 \pm 0,31$, что не отличается от данных чистой инвазии, но достоверно выше контрольного показателя в 10,1 раза. Постимплантационная гибель достоверно увеличилась в 10,1 раз.

При сочетанной терапии альбендазола с ибупрофеном показатели не отличались от контрольных показателей и данных чистой инвазии.

Комбинированная терапия мебендазола с ибупрофеном не выявила достоверных изменений в количества желтых тел, мест имплантации, общего количества эмбрионов и количества резорбций. Количество живых эмбрионов достоверно снизилось в 1,3 раза и составило $5,90 \pm 1,66$. Показатель количества мертвых эмбрионов превысил контроль в 20 раз, и не отличался достоверно от данных чистой инвазии. Показатель средней массы эмбрионов в помете достоверно снизился в 1,03 раза по сравнению с чистой инвазией, но не отличался от данных интактного контроля. Средний краниокаудальный размер достоверно, в 1,04 раза снизился по отношению к чистой инвазии, но не отличался от интактного контроля. Предимплантационная гибель достоверно не изменилась, а постимплантационная достоверно возросла в 11,2 раза по сравнению с интактным контролем, но не отличался от чистой инвазии.

При лечении пирантелом памоатом с ибупрофеном показатели количества желтых тел, мест имплантации, общего количества эмбрионов и количества резорбций не давали достоверных отличий от контроля и данных чистой инвазии. Количество живых эмбрионов достоверно снизилось в 1,4 раза, а количество мертвых эмбрионов возросло в 19 раз в сравнении с негативным контролем, и не отличалось от чистой инвазии. Средняя масса эмбрионов в 1,5 раза превысила данные чистой инвазии и не отличался от интактного контроля. Средний краниокаудальный размер достоверно, в 1,04 раза был ниже чистой инвазии и не отличался от контроля. Постимплантационная гибель в 10,9 раз превысила контроль, не

отличалась от чистой инвазии, а предимплантационная гибель достоверно не изменялась.

При введении пиперазина с ибупрофеном показатели количества желтых тел, мест имплантации, общего количества эмбрионов и количества резорбций не показали достоверных отличий от контроля и данных чистой инвазии. Количество живых эмбрионов достоверно снизилось в 1,36 раза по сравнению с интактным контролем. Количество мертвых эмбрионов возросло по сравнению с контрольным показателем в 19 раз. Средняя масса эмбрионов превышает показатель чистой инвазии в 1,03 раза. Средний краниокаудальный размер снизился в 1,04 раза по сравнению с чистой инвазией, и не отличался от показателя контроля. Показатель предимплантационной гибели достоверно не изменился. Постимплантационная гибель превысила интактный контроль в 10,8 раз, но не отличалась от чистой инвазии.

При комплексной терапии альбендазола с ибупрофеном и комплексом витаминов все исследуемые показатели не отличались от данных чистой инвазии и контрольных показателей.

При лечении миграционного аскаридоза мебендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов, показатели количества желтых тел, мест имплантации, общего количества эмбрионов, количество живых эмбрионов и количества резорбций не отличались от данных чистой инвазии и данных контроля. Количество мертвых эмбрионов достоверно снизилось по сравнению с чистой инвазией в 4,5 раза, не отличалось от данных контроля и составило $0,20 \pm 0,42$. Средняя масса эмбрионов и средний краниокаудальный размер повысились по сравнению с данными чистой инвазии, в 1,4 и в 1,2 раз соответственно. Предимплантационная гибель достоверно не отличалась, а постимплантационная в 2 раза снизилась по отношению к чистой инвазии.

Лечение аскаридоза пирантелом памоатом с ибупрофеном и комплексом витаминов не привело к достоверным изменениям в показателях количества желтых тел, мест имплантации, общего количества эмбрионов, количества живых эмбрионов и количества резорбций. Количество мертвых эмбрионов достоверно снизилось по сравнению с чистой инвазией в 3 раза, и возросло по отношению к интактному контролю в 6 раз. Средняя масса эмбрионов повысилась

в 1,5 раза и средний краниокаудальный размер в 1,2 раза по сравнению с данными чистой инвазии. Предимплантационная гибель достоверно не изменилась. Постимплантационная гибель достоверно снизилась по отношению к чистой инвазии в 1,6 раза, но возросла в сравнении с контролем в 6,6 раз.

Комбинированная терапия пиперазином с ибупрофеном и комплексом витаминов не выявило достоверных изменений в показателях желтых тел, мест имплантации, общего количества эмбрионов и количества резорбций. Количество живых эмбрионов достоверно увеличилось по сравнению с чистой инвазией в 1,2 раза. Количество мертвых эмбрионов снизилось по отношению к чистой инвазии в 2 раза, и возросло по отношению к интактному контролю в 9 раз достоверно. Средняя масса эмбрионов и средний краниокаудальный размер повысились в 1,5 и в 1,1 раза по сравнению с данными чистой инвазии. Показатель предимплантационной гибели достоверно не изменялся. Постимплантационная гибель достоверно снизилась по отношению к чистой инвазии в 2 раза, но возросла в сравнении с контролем в 5,2 раза [60, 150].

* * *

Таким образом, комплексная терапия гельминтозов (описторхоз, трихинеллез, висцеральный токсокароз, миграционный аскаридоз), включающая в себя специфическую (празиквантел при описторхозе, альбендазол, мебендазол при нематодозах), патогенетическую (ибупрофен, фенкарол) и антиоксидантную (комплекс витаминов С, Е, β -каротин с селеном) является наиболее эффективным способом защиты генома хозяина и его эмбрионов, так как максимально приближает значения показателей генотоксичности, цитотоксичности к уровню интактного контроля. Комплексное лечение приводит к нормализации уровней средней массы зародышей, краниокаудального размера, их постимплантационной гибели до показателей интактного контроля [60, 90, 150].

5.2. Повышение уровней репарации ядерной ДНК, редукции апоптоза клеток млекопитающих различных семейств при дегельминтизации хозяина совместно с применением нестероидных противовоспалительных препаратов и витаминов с антиоксидантным характером действия

Изучение репарации ядерной ДНК, редукция апоптоза соматических клеток млекопитающих различных семейств при дегельминтизации хозяина совместно с применением нестероидных противовоспалительных препаратов и витаминов с антиоксидантным характером действия было проведено при экспериментальных тениидозах, дифиллоботриозе, гименолепидозе, а также описторхозе, тениидозах, дифиллоботриозе, гименолепидозе, трихоцефалезе, аскаридозе, висцеральном токсокарозе, трихинеллезе человека.

При проведении сочетанной терапии гельминтозов использовались следующие дозировки препаратов:

- **празиквантел** – однократно в дозе 25 мг/кг (терапия экспериментальных тениидозов, дифиллоботриоза, гименолепидоза), однократно в дозе 25 мг/кг массы (терапия тениидозов, дифиллоботриоза, гименолепидоза человека), однократно в дозе 70 мг/кг (терапия описторхоза человека);

- **фенасал** – однократно в дозе 29 мг/кг (терапия экспериментального гименолепидоза),

- **альбендазол** – однократно в дозе 15 мг/кг (терапия экспериментального гименолепидоза), однократно 400 мг (терапия трихоцефалеза человека), в дозе 15 мг/кг ежедневно 30 дней (терапия висцерального токсокароза человека), однократно в дозе 15 мг/кг (терапия аскаридоза человека), 800 мг в сутки – 7-14 дней (терапия трихинеллеза средней тяжести человека);

- **мебендазол** – в дозе 100 мг 2 раза в сутки 3 дня подряд (терапия трихоцефалеза, аскаридоза человека), в дозе 100 мг 2 раза в день ежедневно 30 дней (терапия висцерального токсокароза), в дозе 300 мг в сутки в три приема – 7-14 дней (терапия трихинеллеза средней тяжести человека);

- **хифенодина гидрохлорид** (фенкарол) в течение 10 дней по 10 мг 2 раза в день для возрастной группы 3-7 лет, по 15 мг 2 раза в день для возрастной группы 7-8 лет (терапия висцерального токсокароза);

– **ибупрофен** – трехкратно в дозе 30 мг/кг (терапия экспериментального гименолепидоза), в течение 3-5 дней по ½-1 таблетке (200 мг) 4 раза в день (терапия описторхоза, гименолепидоза, трихоцефалеза, трихинеллеза средней тяжести человека), в течение 10 дней по ½ таблетки (200 мг) 4 раза в день (терапия висцерального токсокароза человека), в течение 3-х дней в дозе 20 мг/кг массы тела в три приёма для возрастной группы 6-7 лет, 1/2 таблетки 4 раза в день – для возраста старше 8 лет (терапия аскаридоза человека)

– **индометацин** – трёхкратно в дозе 2,14 мг/кг (терапия экспериментальных тениидозов, дифиллоботриоза, гименолепидоза), 25 мг 3 раза в день три дня (терапия тениидозов, дифиллоботриоза, гименолепидоза человека)

– **витамины** трехкратно в дозировках: β-каротин – 6 мг/кг, токоферол ацетата – 80 мг/кг, аскорбиновая кислота – 200 мг/кг, Se – 20 мкг/кг (терапия экспериментальных тениидозов, дифиллоботриоза, гименолепидоза);

– **витаминный антиоксидантный комплекс с Se** (“Антиоксикапс с селеном” или “АОК-Se”, в капсуле (таблетке) – 100 мг витамина С, 30 мг витамина Е, 6 мг β-каротина и 30 мкг селена) 1 таблетка в день в течение 3-х дней (терапия описторхоза, тениидозов, дифиллоботриоза, гименолепидоза, трихоцефалеза человека), ¼ таблетки в день в течение 3-10 дней (терапия аскаридоза, висцерального токсокароза человека), по 1 капсуле два раза в день – 7 дней (терапия трихинеллеза средней тяжести человека);

– **пищеварительный ферментный препарат**, содержащий липазу, амилазу, протеазы в драже – 2 драже 3 раза в сутки 3 дня (терапия тениидозов, дифиллоботриоза человека).

Лекарственные средства разводили до нужной концентрации в 2 % крахмальном геле и вводили животным внутрижелудочно при помощи туберкулинового шприца с железной оливой на конце иглы.

Проводили щелочной гель-электрофорез изолированных клеток (метод “ДНК-комет”). Полученные данные по генотоксическому и цитотоксическому эффектам у пролеченных млекопитающих сравнивались с показателями интактного контроля и данными чистой инвазии. Для оценки эффективности защиты генома пациентов от воздействия гельминтов применяли метод “ДНК-комет” лимфоцитов

периферической крови. В качестве негативного контроля использовали данные метода “ДНК-комет” лимфоцитов доноров крови. Рассчитывали среднюю арифметическую и ее стандартное отклонение ($M+SD$). Достоверность выявленных различий определяли по t-критерию Стьюдента

Нами проводилась разработка эффективного комбинированного метода лечения описторхоза антигельминтиком (празиквантел), нестероидным противовоспалительным препаратом (ибупрофен) и витаминным антиоксидантным комплексом (витамины С, Е, β -каротин с селеном) у пациентов с описторхозом на основе учета изменений первичных повреждений ДНК, апоптоза соматических клеток [126]. Под наблюдением находилось 28 пациентов с описторхозом. Пациенты были разделены на три группы. Первая группа получала монотерапию празиквантелом, вторая – комбинированную терапию празиквантелом с ибупрофеном, третья – комбинированную терапию празиквантелом с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с Se.

Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток лимфоцитов доноров и пациентов с описторхозом приведены на рисунках 5.5–5.8.

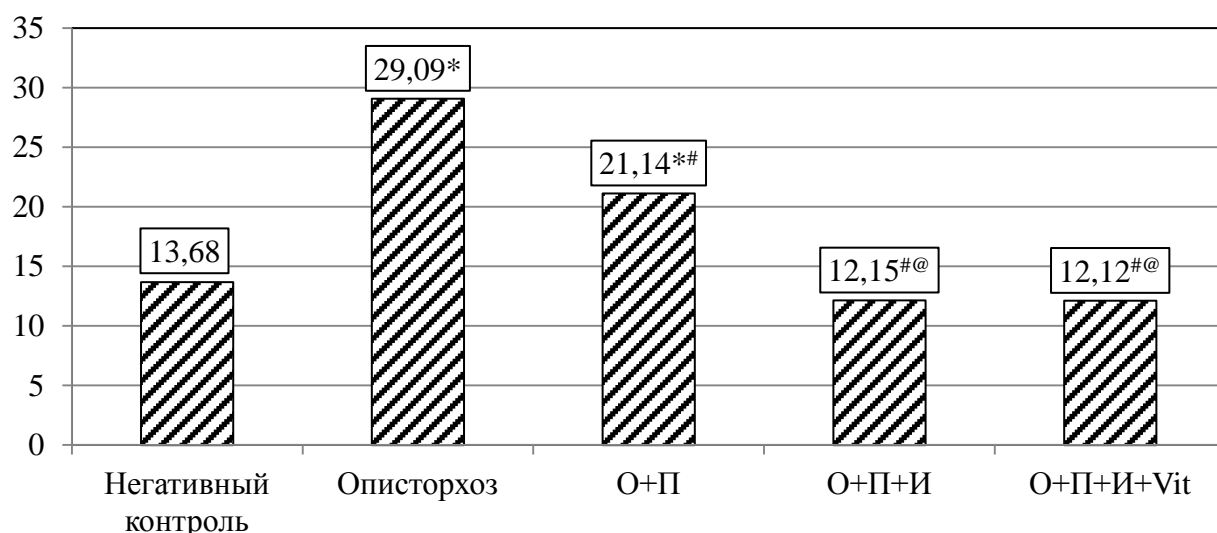


Рис. 5.5. Длина “хвостов комет” клеток лимфоцитов периферической крови пациентов с описторхозом при лечении празиквантелом (П), с индометацином (И) и комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных контроля, # – от данных пациентов до лечения, @ – от данных пациентов, получавших терапию только празиквантелом при $P < 0,01-0,05$.

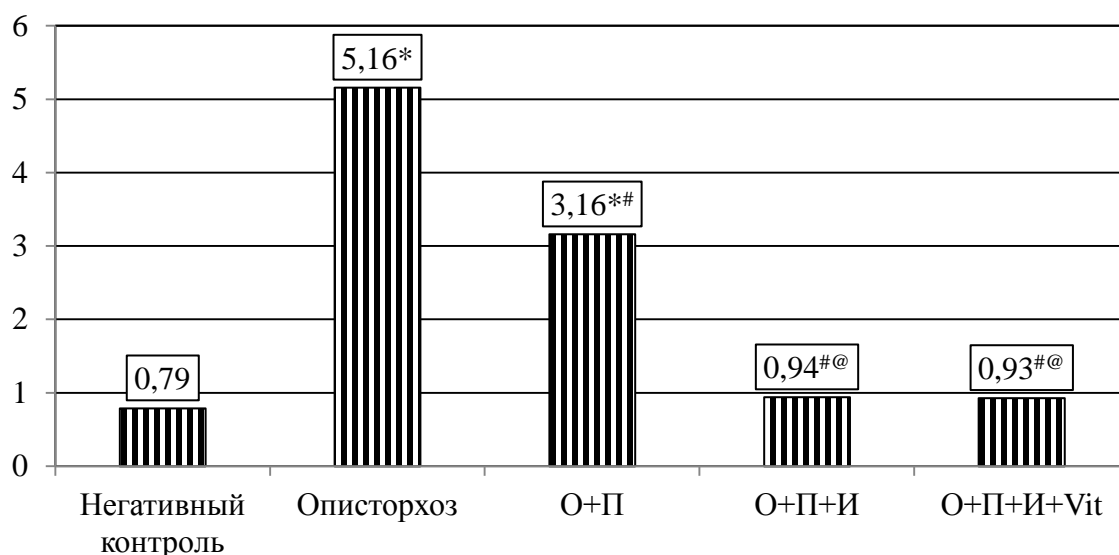


Рис. 5.6. Процент ДНК в “хвостах комет” клеток лимфоцитов периферической крови пациентов с описторхозом при лечении празиквантелом (П), с индометацином (И) и комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных контроля, # – от данных пациентов до лечения, @ – от данных пациентов, получавших терапию только празиквантелом при $P < 0,01-0,05$.

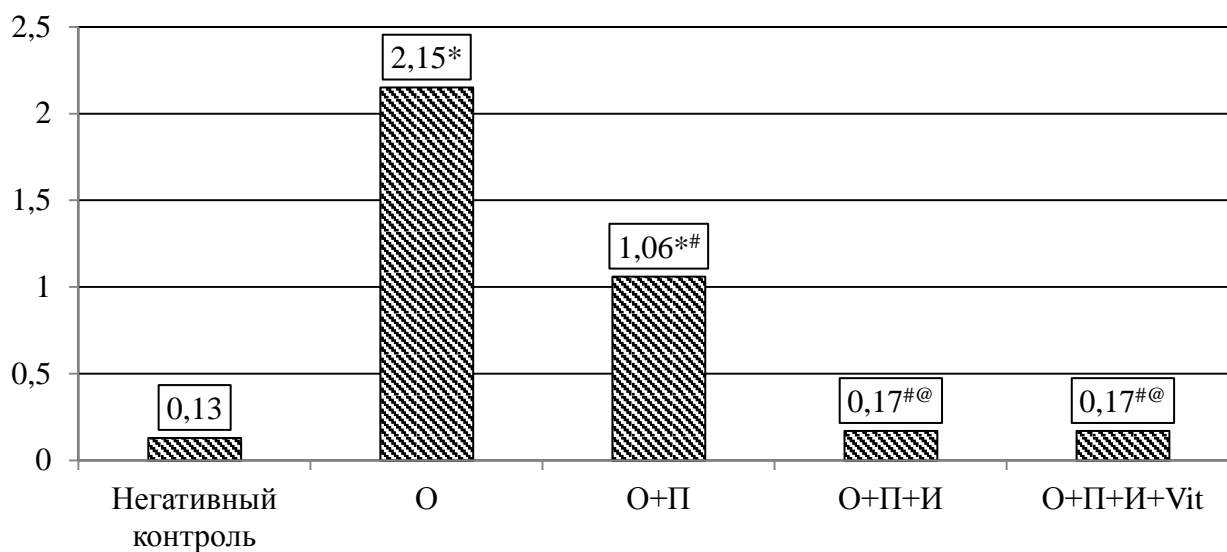


Рис. 5.7. “Момент хвоста” лимфоцитов периферической крови пациентов с описторхозом при лечении празиквантелом (П), с индометацином (И) и комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных контроля, # – от данных пациентов до лечения, @ – от данных пациентов, получавших терапию только празиквантелом при $P < 0,01-0,05$.

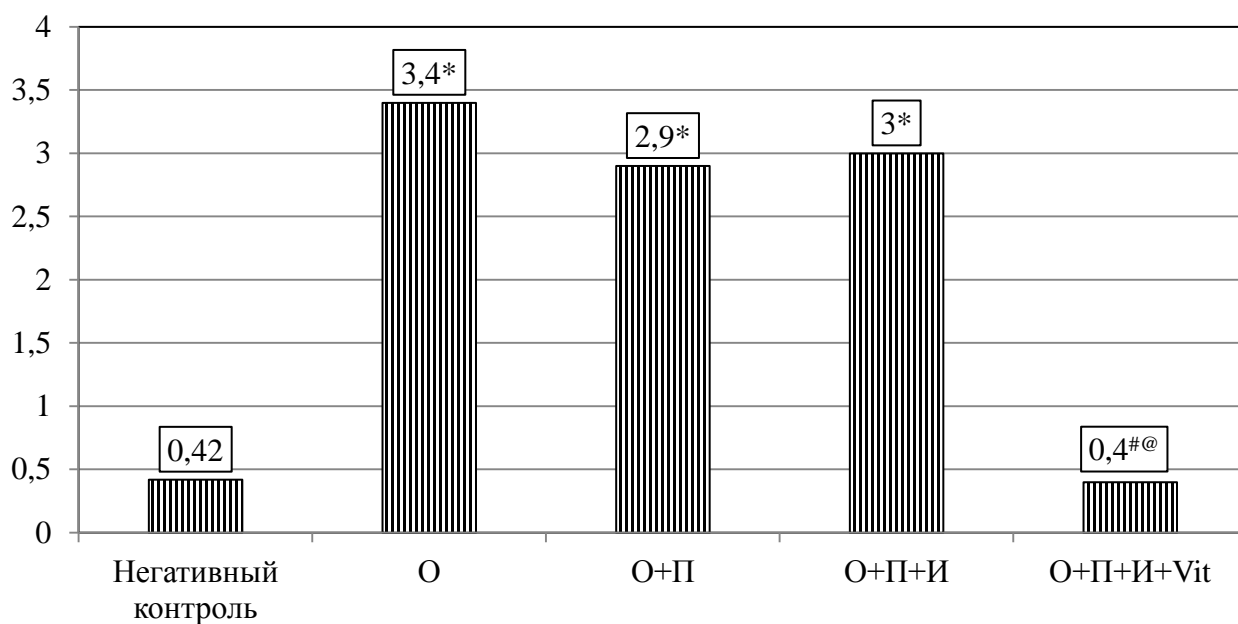


Рис. 5.8. Проценты апоптотических клеток лимфоцитов периферической крови пациентов с описторхозом при лечении празиквантелом (П), с индометацином (И) и комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных контроля, # – от данных пациентов до лечения, @ – от данных пациентов, получавших терапию только празиквантелом при $P < 0,01-0,05$.

Применение монотерапии празиквантелом для лечения описторхоза приводит к снижению генотоксического эффекта в лимфоцитах крови пациентов, но эти величины достоверно превышают показатели доноров крови. Монотерапия празиквантелом не изменяет высокий уровень апоптотических клеток.

После лечения одним празиквантелом у 50 % пациентов с описторхозом сохраняются жалобы на боли в правом подреберье, тошноту, высокие уровни эозинофилии, СОЭ, активности щелочной фосфатазы, титр антител к описторхозному антигену наблюдается увеличение прямого билирубина, сохраняется гепатомегалия. В фекалиях обнаруживаются яйца описторхисов. В связи с этим, половине пациентов с описторхозом, необходимо проведение повторного курса монотерапии празиквантелом. Применение для лечения описторхоза празиквантеля с ибупрофеном элиминирует генотоксический эффект инвазии, но не устраняет ее цитотоксический эффект. После лечения празиквантелом с ибупрофеном у 20 % пациентов сохраняются жалобы на боли в правом подреберье, эозинофилия, высокие уровни активности щелочной фосфатазы, титров антител к описторхозному антигену. В

фекалиях обнаруживаются яйца описторхисов. В связи с этим, им через 30 дней был проведен повторный курс лечения празиквантелом с ибупрофеном. Высокой клинической эффективностью обладает комбинированное лечение описторхоза празиквантелом с ибупрофеном и комплексом витаминов С, Е, β -каротин с Se. После лечения все пациенты жалоб не предъявляли, общий и биохимический анализы крови были в норме, антитела к описторхозному антигену не обнаруживались. В фекалиях яйца описторхисов не выявлялись. Повторного назначения комбинированной терапии не потребовалось. Эта схема терапии эффективно защищает геном пациентов с описторхозом, так как приводит к снижению уровней первичных повреждений [126].

На основании проведенных исследований в рамках выполнения была разработана и утверждена Министерством здравоохранения инструкции на “Комбинированный метод лечения описторхоза” [83].

Нами были изучены возможные генотоксические и цитотоксические эффекты в клетках хозяина при тениидозах и обоснован новый способ лечения инвазий, направленный на защиту генома хозяина [62]. Исследования проводились на 40 золотистых хомяках-самцах, которые были разделены на 4 группы по 10 животных в зависимости от вида возбудителя: первая – контрольная, вторая – чистая инвазия тениидами, третья – терапия инвазии *T. solium* и четвертая – терапия инвазии *T. saginatus*. Каждая из групп состояла из 2 подгрупп по 5 животных, заражённых 20 цистицерками свиного или бычьего цепней соответственно и пролеченных на имагинальной стадии инвазий с 42-го по 44-й дни от заражения празиквантелом или празиквантелом с индометацином и комплексом витаминов с селеном. Для повышения вероятности приживания и способствованию более длительного паразитирования тениид проводили обработку дексаметазоном. Цистицерки брали из свежего финнозного мяса животных, полученного из мясокомбинатов. Проводили метод “ДНК-комет” клеток костного мозга. Для оценки эффективности терапии инвазии проводился подсчет количества паразитов в тонком кишечнике на 45-й день от заражения.

У инвазированных свинными цепнями золотистых хомячков, получавших терапию празиквантелом, на имагинальной стадии развития паразитов, процент ДНК в “хвостах комет” в клетках

костного мозга составил $2,92 \pm 0,87$, что достоверно превысило контрольное значение в 1,6 раза, но в то же время оказалось ниже данных чистой инвазии в 2,2 раза (Рис. 5.10). Длина “хвостов комет” превысила уровень интактного контроля в 4,2 раза (Рис. 5.9). Основной показатель генотоксичности достоверно был выше в 6,57 раза по отношению к данным негативного контроля (Рис. 5.11). Показатель цитотоксичности достоверно не отличался от контрольного. Число цестод в кишечнике достоверно уменьшилось и составило в среднем $0,4 \pm 0,55$ на животное.

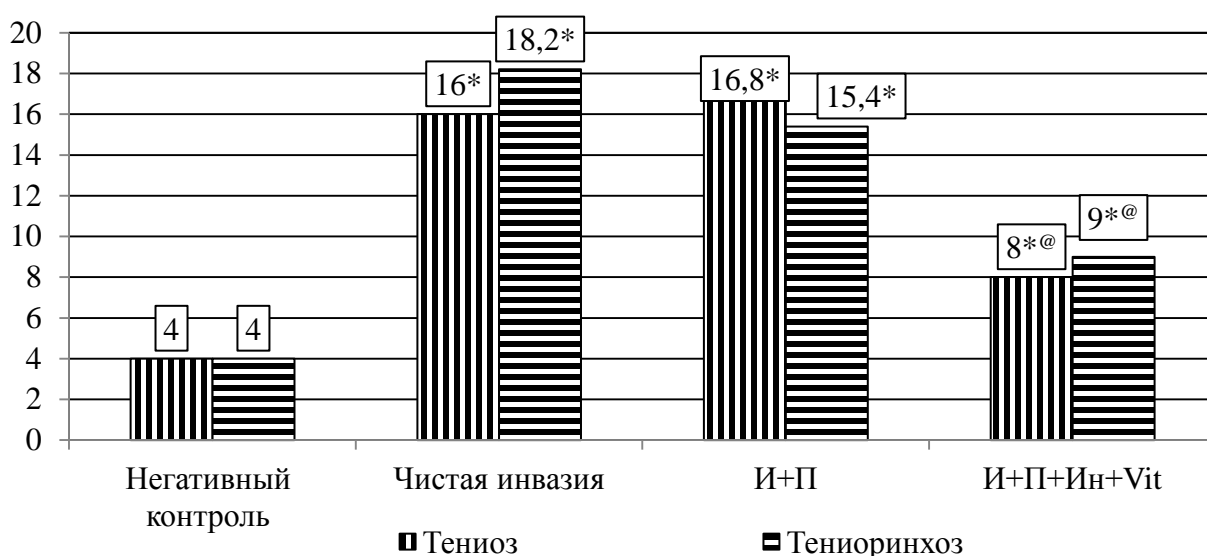


Рис. 5.9. Длина “хвостов комет” клеток в костном мозге золотистых хомяков до и после комбинированной терапии тениидозов празиквантелом (П), либо сочетанной терапией празиквантелом, индометацином и комплексом витаминов с Se (П+Ин+Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных негативного контроля, @ – от данных чистой инвазии при $P < 0,01-0,05$.

При проведении терапии тениоза у золотистых хомяков празиквантелом в сочетании с индометацином и комплексом витаминов с Se процент ДНК в “хвостах комет” был достоверно ниже данных чистой инвазии в 5 раз и не отличался от показателя негативного контроля (Рис. 5.10). Длина “хвостов комет” в 2 раза достоверно превышала контрольный показатель, но в то же время в 2 раза было ниже данных чистой инвазии (Рис. 5.9). “Момент хвоста” клеток костного мозга достоверно не отличался от данного показателя у интактных животных и в 11 раз был ниже по сравнению с данными чистой инвазии (Рис. 5.11). Процент апоптотических клеток достоверно не отличался от негативного контроля и чистой

инвазии. После проведенной терапии на 45-й день эксперимента у золотистых хомяков данной подгруппы паразитов в кишечнике обнаружено не было.

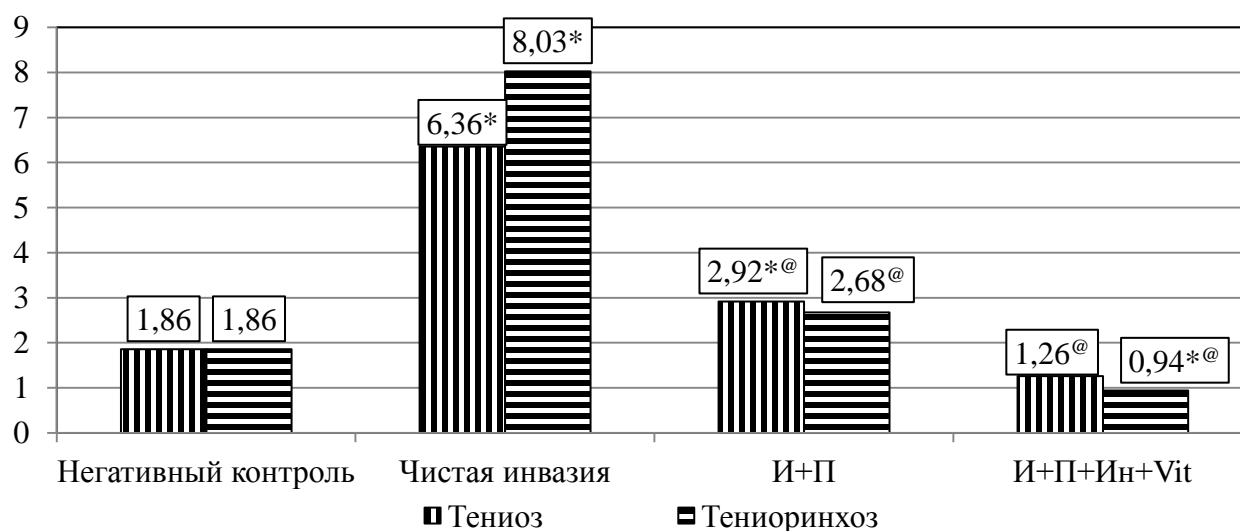


Рис. 5.10. Проценты ДНК в "хвостах комет" клеток в костном мозге золотистых хомяков до и после комбинированной терапии тениидозов празиквантелом (П), либо сочетанной терапией празиквантелом, индометацином и комплексом витаминов с Se (П+Ин+Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных негативного контроля, [@] – от данных чистой инвазии при $P < 0,01-0,05$.

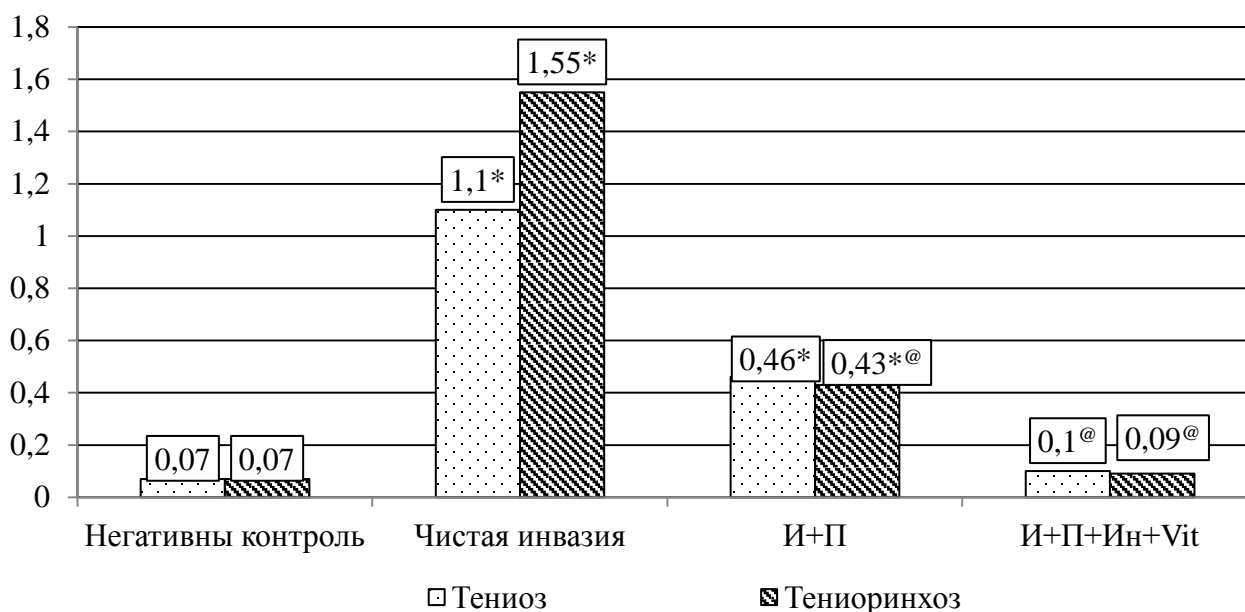


Рис. 5.11. "Момент хвоста" клеток костного мозга золотистых хомяков до и после комбинированной терапии тениидозов празиквантелом (П), либо сочетанной терапией празиквантелом, индометацином и комплексом витаминов с селеном (П+Ин+Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных негативного контроля, [@] – от данных чистой инвазии при $P < 0,01-0,05$.

У инвазированных бычьими цепнями золотистых хомяков, получавших терапию празиквантелом на имагинальной стадии развития паразитов, процент ДНК в “хвостах комет” ($2,68 \pm 0,75$) достоверно не отличался от контрольного показателя, но, в то же время превышал в 3 раза данные чистой инвазии (Рис. 5.10). Данные длины “хвостов комет” достоверно возросли в 3,9 раза по сравнению с контрольными и не отличались достоверно от данных чистой инвазии (Рис. 5.9). Показатель “момента хвоста” достоверно был выше в 6,14 раза по отношению к данным негативного контроля, но в то же время снизился в 3,6 раза по отношению к чистой инвазии (Рис. 5.11). Процент апоптотических клеток достоверно не отличался от негативного контроля и чистой инвазии. Число цестод в кишечнике уменьшилось и составило в среднем $0,8 \pm 0,84$ на животное.

При проведении терапии тениаринхоза у золотистых хомяков празиквантелом в сочетании с индометацином и комплексом витаминов с Se процент ДНК в “хвостах комет” оказался достоверно ниже данных негативного контроля и чистой инвазии в 1,98 и 8,5 раз соответственно (Рис. 5.10). Длина “хвостов комет”, была достоверно ниже показателя чистой инвазии в 2 раза, но выше данных негативного контроля в 2,25 раза (Рис. 5.9). “Момент хвоста” клеток костного мозга достоверно не отличался от данного показателя у интактных животных и в 17,2 раза был ниже по сравнению с данными чистой инвазии (Рис. 5.11). Показатель цитотоксичности достоверно не изменялся. После проведенной терапии на 45-й день эксперимента у золотистых хомяков данной подгруппы паразитов в кишечнике обнаружено не было [62].

При разработке комбинированного способа терапии инвазий свинными и бычьими цепнями у человека под наблюдением находилось 14 пациентов с тениаринхозом и 8 человек с тениозом в возрасте от 20 до 50 лет [62]. Пациенты с тениаринхозом и тениозом были разделены на две подгруппы по 7 и 4 человека соответственно. Первые подгруппы получали только празиквантель, вторые – сочетанную терапию празиквантелом с индометацином, витаминным антиоксидантным комплексом с Se и пищеварительный ферментный препарат. Витаминный антиоксидантный комплекс с Se и пищеварительный ферментный препарат назначали с индометацином в течение 3 дней.

После лечения пациентов с тениаринхозом только празиквантелом процент ДНК в “хвостах комет” превысил контрольный уровень в 3,1 раза (Рис. 5.12). Длина “хвостов комет” достоверно превысила контрольный показатель в 3,6 раза, но в это же время была ниже данных до лечения в 2 раза (Рис. 5.13). “Момент хвоста” лимфоцитов периферической крови пациентов с тениаринхозом был ниже в 2,82 раза, чем до лечения, однако в 6 раз превышал контрольный показатель (Рис. 5.14). Уровень апоптотических клеток не отличался от этого показателя до лечения, а также был выше в 10,3 раза уровня контрольной группы (Рис. 5.15).

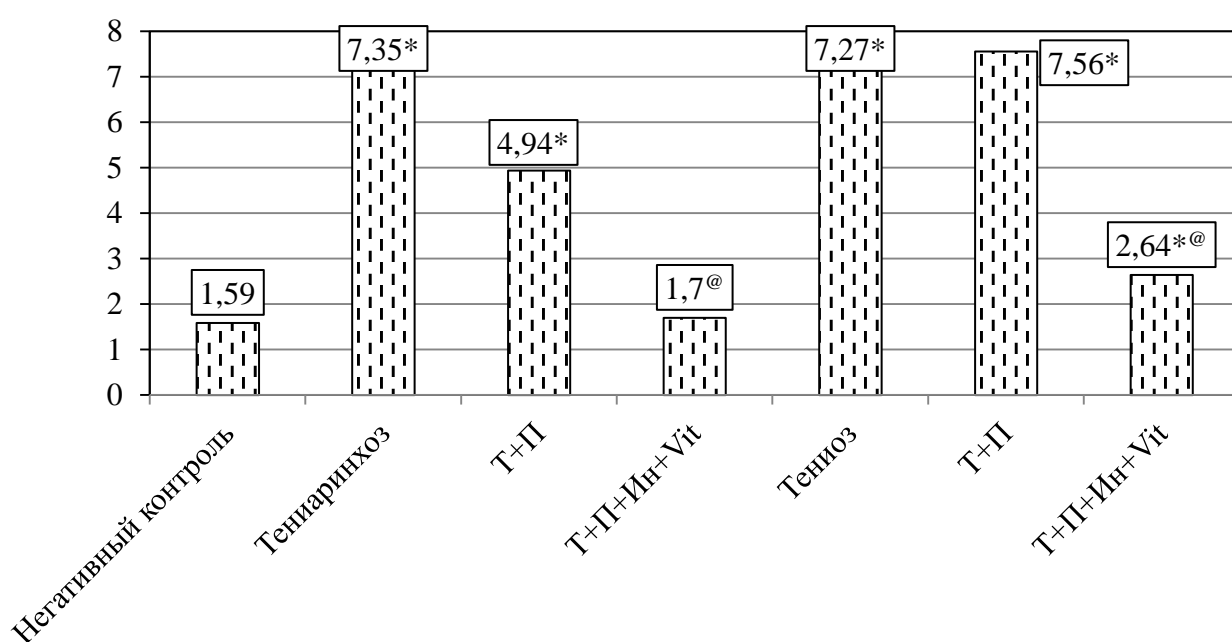


Рис. 5.12. Проценты ДНК “хвостов комет” лимфоцитов периферической крови пациентов с тениидозами до и после комбинированного лечения празиквантелом (П), ивермектином (И) и комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных доноров крови, @ – от данных до лечения при $P < 0,01-0,05$.

Комбинированная терапия у пациентов с тениаринхозом, пролеченных празиквантелом в сочетании с ивермектином, комплексом витаминов-антиоксидантов с Se и пищеварительным ферментным препаратом характеризовалась повышением процента ДНК в “хвостах комет” и длины “хвостов комет” в 1,07 и 1,4 раза соответственно (Рис. 5.12–5.13). В это же время наблюдалось снижение “момента хвоста” лимфоцитов периферической крови в 13,3 раза по сравнению с данными до лечения и этот показатель не превышал контроль (Рис. 5.14). Уровень апоптотических клеток не

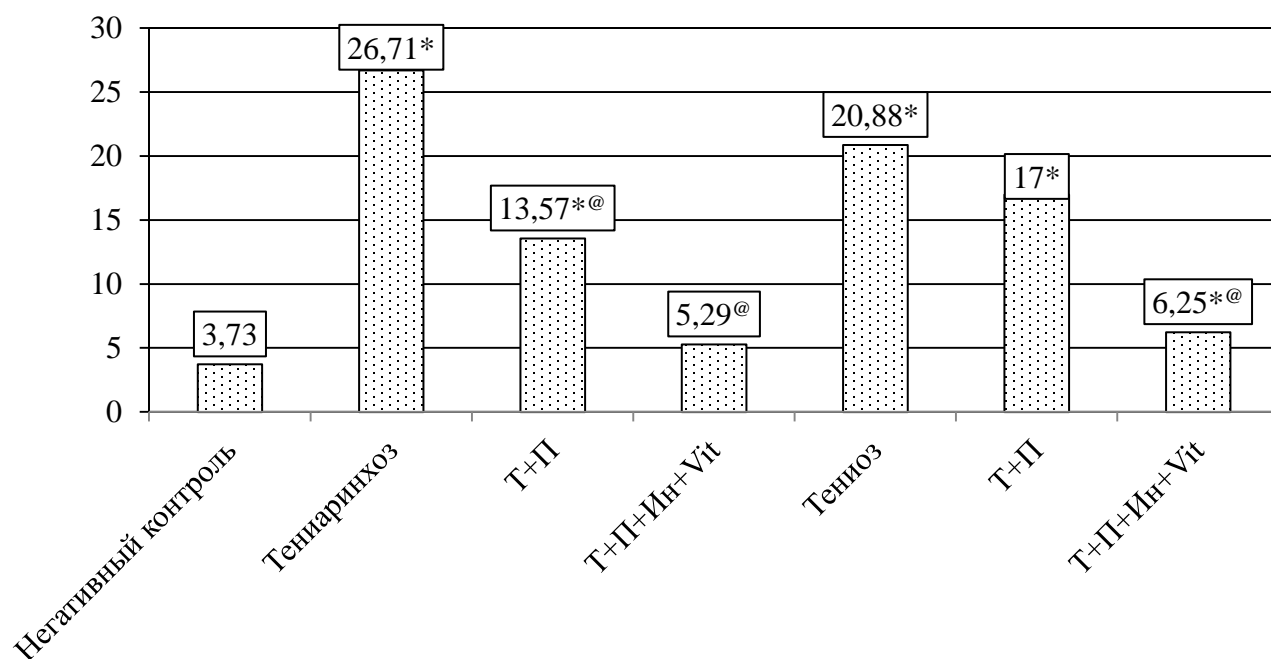


Рис. 5.13. Длина "хвостов комет" лимфоцитов периферической крови пациентов с тениидозами до и после комбинированного лечения празиквантелом (П), индометацином (Ин) и комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных доноров крови, @ – от данных до лечения при $P < 0,01-0,05$.

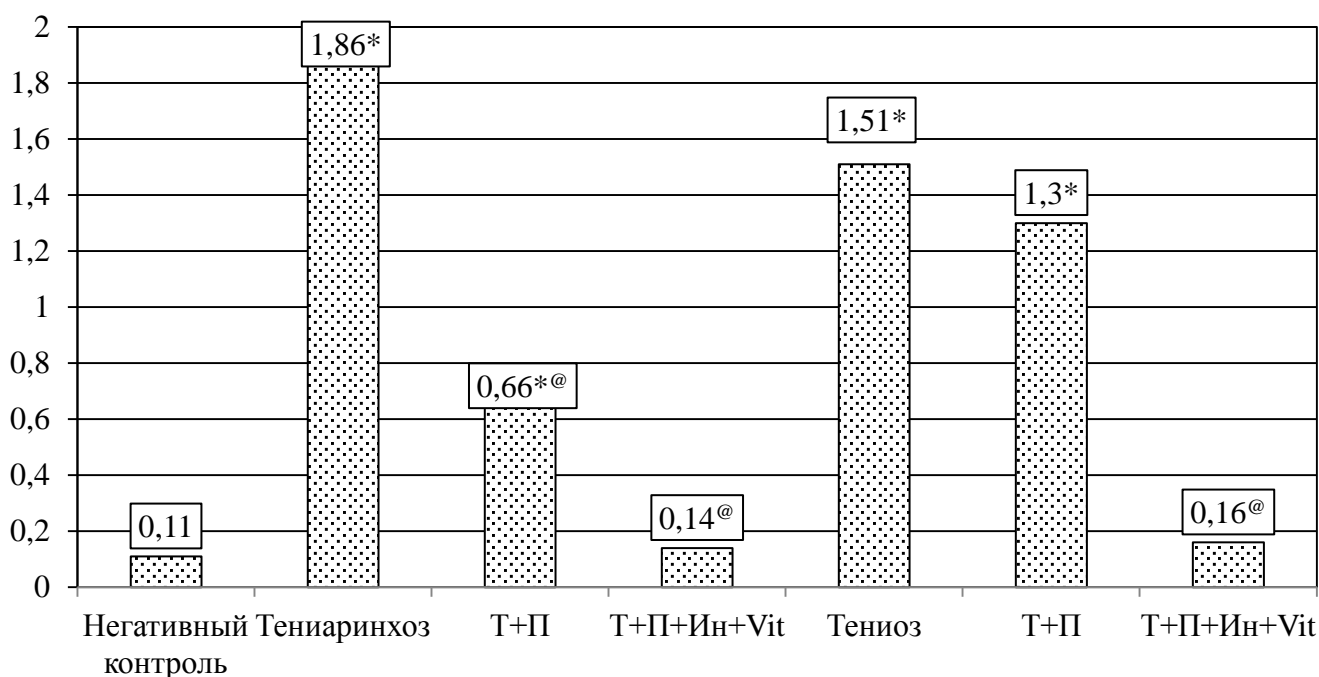


Рис. 5.14. "Момент хвостов" комет лимфоцитов периферической крови пациентов с тениидозами до и после комбинированного лечения празиквантелом (П), индометацином (Ин) и комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных доноров крови, @ – от данных до лечения при $P < 0,01-0,05$.

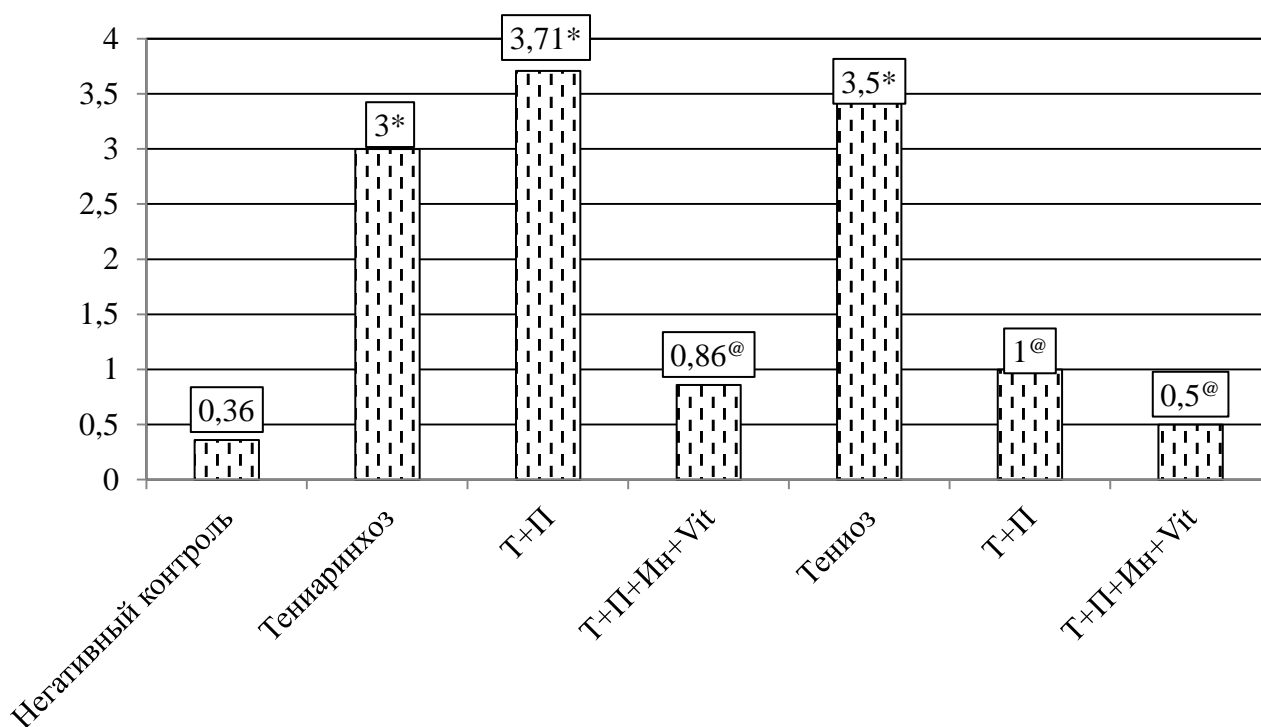


Рис. 5.15. Проценты апоптотических клеток лимфоцитов периферической крови пациентов с тениидами до и после комбинированного лечения празиквантелом (П), индометацином (Ин) и комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных доноров крови, @ – от данных до лечения при $P < 0,01-0,05$.

отличался от контрольного показателя и в 3,5 раза был ниже данных, полученных до лечения (Рис. 5.15).

У пациентов с тениозом, пролеченных только празиквантелом, показатели генотоксичности (процент ДНК в “хвостах комет” и длина “хвостов комет”) достоверно превышали контрольные величины в 4,8 и 4,6 раз соответственно (Табл. 5.4). “Момент хвоста” лимфоцитов периферической крови не отличался от данных, полученных до лечения, и в 11,8 раза превышал контрольный показатель. Уровень апоптотических клеток был ниже в 3,5 раза, чем до лечения, и не отличался от данных контрольной группы.

У пациентов с тениозом, получавших празиквантел, индометацин, комплекс витаминов-антиоксидантов с Se и пищеварительный ферментный препарат на 30 день отмечалось достоверное увеличение процента ДНК в “хвостах комет” в 1,7 раза по отношению к донорам крови, но снижение этого показателя в отношении результатов до лечения в 2,8 раза (Рис. 5.12). Показатель длины “хвостов комет” также был ниже данных до лечения в 3,3 раза, но выше контрольного показателя в 1,7 раза (Рис. 5.13). Наблюдалось

снижение “момента хвоста” лимфоцитов периферической крови в 9,4 раза по сравнению с данными до лечения, и этот показатель не превышал контрольный уровень (Рис. 5.14). Уровень апоптотических клеток не отличался от показателей доноров, но был достоверно ниже данных до лечения в 7 раз (Рис. 5.15) [62].

На основании исследований, проведенных в рамках темы задания нами разработана и утверждена Министерством здравоохранения инструкция по применению “Способ лечения тениидозов, включающий специфическую, патогенетическую и антиоксидантную терапию” [139].

Нами были изучены возможные генотоксические и цитотоксические эффекты в клетках хозяина при дифиллоботриозе и обоснован новый способ лечения инвазии, направленный на защиту генома хозяина, а также достижение полного выздоровления пациента [64]. Экспериментальные исследования были проведены на 40 золотистых хомяках-самцах, которые были разделены на 4 группы по 10 животных в каждой: первая (негативный контроль), вторая – чистая инвазия, третья – терапия инвазии празиквантелом; четвертая – терапия инвазии празиквантелом, индометацином и витаминным антиоксидантным комплексом с Se. Всех животных второй, третьей и четвертой групп заражали внутрижелудочно в дозе 10 плероцеркоидов на животное. Для повышения вероятности приживания и способствованию более длительного паразитирования широких лентецов проводили обработку дексаметазоном, который вводили подкожно в дозе 0,4 мг на животное за 2 дня до заражения и далее 2 раза в неделю после заражения.

Животные были пролечены на имагинальной стадии инвазии с 17-го по 19-й дни от заражения празиквантелом или празиквантелом с индометацином и витаминным антиоксидантным комплексом с Se. Проводили метод “ДНК-комет” клеток костного мозга и семенников. Для оценки эффективности терапии инвазии проводился подсчет количества паразитов в тонком кишечнике на 20-й день инвазии.

У инвазированных широким лентецом золотистых хомяков, получавших терапию празиквантелом на имагинальной стадии развития паразитов в клетках костного мозга, показатель длины “хвостов комет” достоверно превысил контрольный в 3,7 раза (Рис. 5.16). Процент ДНК в “хвостах комет” возрос в 1,7 раза по отношению к контрольному, а к показателю чистой инвазии снизился

в 2,3 раза (Рис. 5.17). Основной показатель генотоксичности (“момент хвоста” комет) достоверно был выше в 6,4 раза по отношению к данным интактного контроля и не отличался от данных чистой инвазии (Рис. 5.18). Процент апоптотических клеток в костном мозге

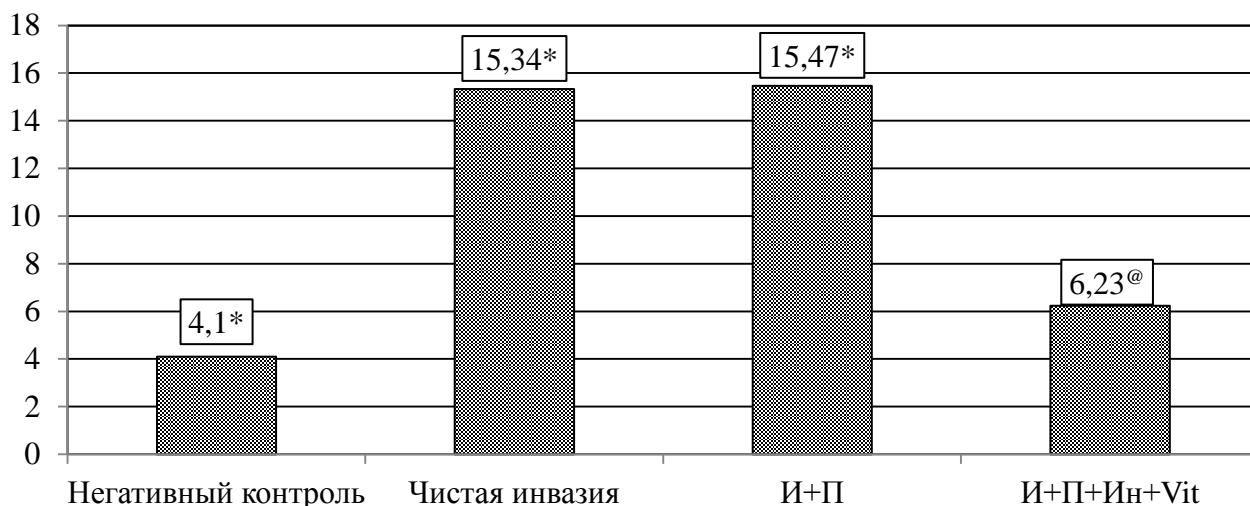


Рис. 5.16. Длина “хвостов комет” клеток в костном мозге золотистых хомяков до и после комбинированной терапии дифиллоботриоза празиквантелом (П), индометацином (Ин) и комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных негативного контроля, @ – от данных чистой инвазии при $P < 0,01-0,05$.

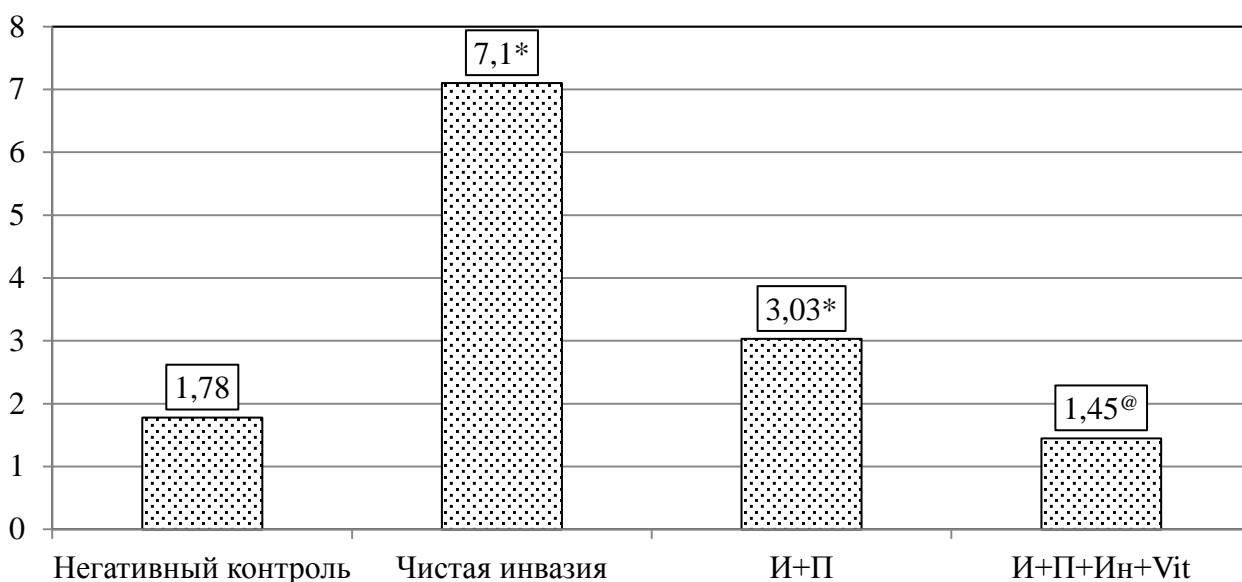


Рис. 5.17. Проценты ДНК в “хвостах комет” клеток в костном мозге золотистых хомяков до и после комбинированной терапии дифиллоботриоза празиквантелом (П), индометацином (Ин) и комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных негативного контроля, @ – от данных чистой инвазии при $P < 0,01-0,05$.

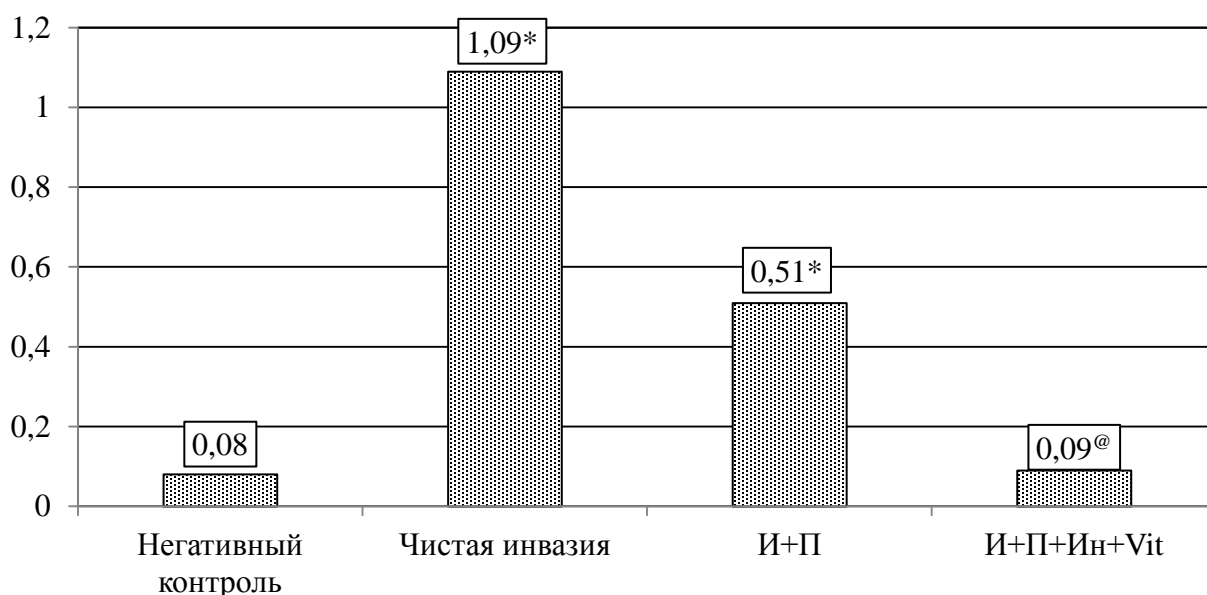


Рис. 5.18. “Момент хвоста” клеток в костном мозге золотистых хомяков до и после комбинированной терапии дифиллоботриоза празиквантелом (П), индометацином (Ин) и комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных негативного контроля, @ – от данных чистой инвазии при $P < 0,01-0,05$.

достоверно не изменялся. В клетках семенников животных при лечении одним антигельминтиком все показатели генотоксичности и цитотоксичности не отличались от показателей интактного контроля. Число паразитов в кишечнике уменьшилось и составило в среднем $0,6 \pm 0,35$ на животное.

При проведении терапии дифиллоботриоза у золотистых хомяков празиквантелом в сочетании с индометацином и комплексом витаминов с Se выявило достоверные изменения по показателям генотоксичности. Так, показатель длины “хвостов комет” достоверно не отличался от контрольного и в 2,5 раза был ниже показателя чистой инвазии (Рис. 5.16). Процент ДНК в “хвостах комет” был достоверно ниже значения чистой инвазии в 4,9 раза и не отличался от данных негативного контроля (Рис. 5.17). Значение “момента хвоста” клеток костного мозга золотистых хомяков достоверно не отличалось от данного показателя у контрольных животных, но в тоже время в 12,1 раза было ниже по сравнению с данными чистой инвазии (Рис. 5.18). Процент апоптотических клеток достоверно не изменялся. В генеративных клетках хомяков-самцов при комбинированной терапии только показатель длины “хвостов комет” достоверно превысил контрольный в 1,5 раза (Рис. 5.19). Процент

ДНК в “хвостах комет”, “момент хвоста” клеток семенников и процент апоптотических клеток не отличались от данных интактного контроля. После проведенной терапии на 20-й день эксперимента у хомяков данной подгруппы паразитов в кишечнике обнаружено не было.

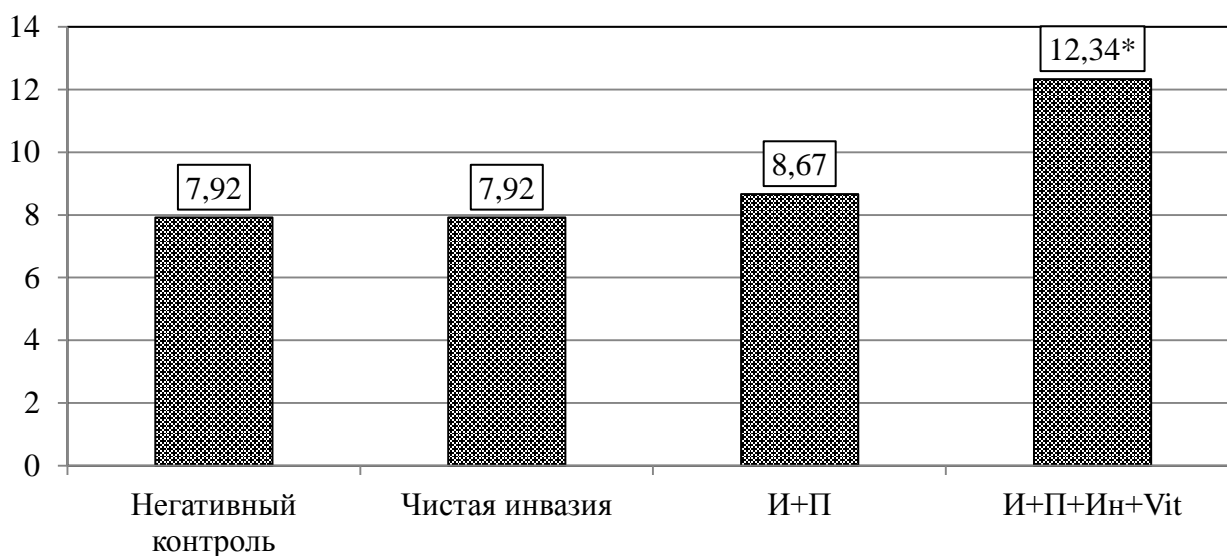


Рис. 5.19. Длина “хвостов комет” клеток семенников золотистых хомяков до и после комбинированной терапии дифиллоботриоза празиквантелом (П), индометацином (Ин), комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * – достоверное отличия от данных негативного контроля при $P < 0,01-0,05$.

При разработке комбинированного способа терапии дифиллоботриоза человека празиквантелом с индометацином и витаминным антиоксидантным комплексом, содержащем витамины С, Е, β -каротин с Se. под наблюдением находилось 20 пациентов с дифиллоботриозом. Пациенты с дифиллоботриозом были разделены на три подгруппы. Первая подгруппа включала 8 человек, которые не получали лечения, вторая – 4 человека, пролеченных празиквантелом, третья подгруппа – 8 пациентов, получавших сочетанную терапию празиквантелом с индометацином, витаминным антиоксидантным комплексом с Se и пищеварительным ферментным препарат. Витаминный антиоксидантный комплекс с Se и пищеварительный ферментный препарат назначали совместно с индометацином в течение 3 дней.

У пациентов, пролеченных только празиквантелом, при использовании метода “ДНК-комет” все исследуемые показатели генотоксичности достоверно отличались от контрольных уровней

(Рис. 5.20–5.21). Так, показатель длины “хвостов комет” превышал

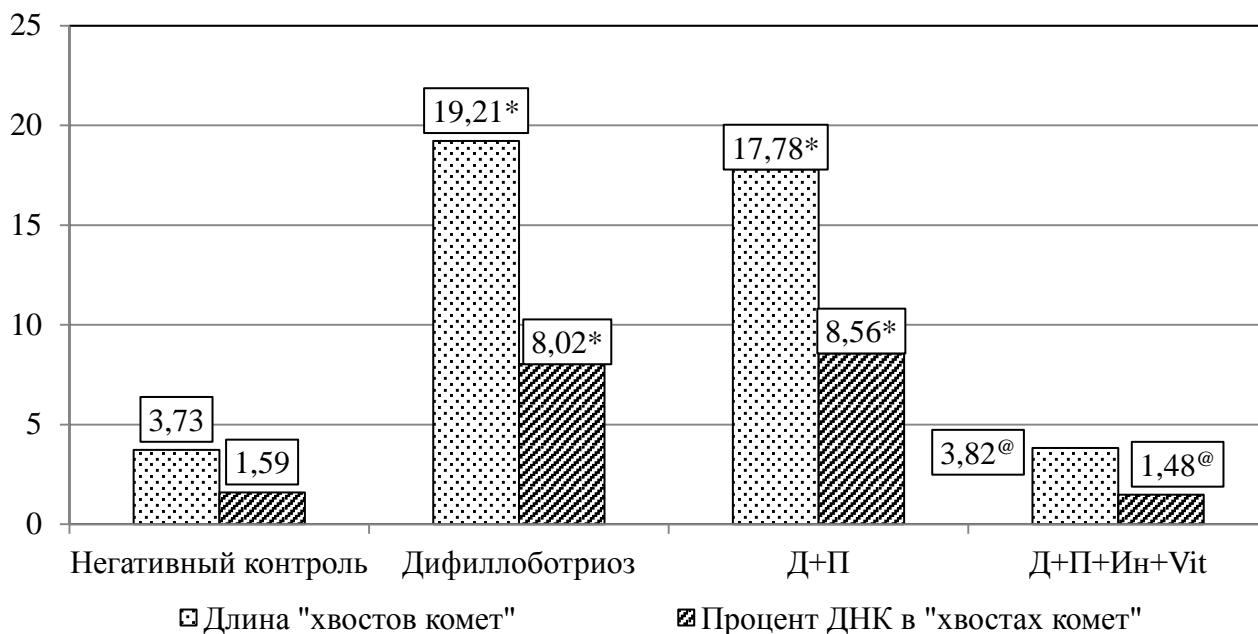


Рис. 5.20. Показатели генотоксичности лимфоцитов периферической крови пациентов с дифиллоботриозом до и после комбинированного лечения празиквантелом (П), индометацином (Ин), комплексом витаминов с Se и пищеварительным ферментным препаратом (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных доноров крови, @ – от данных до лечения при $P < 0,01-0,05$.

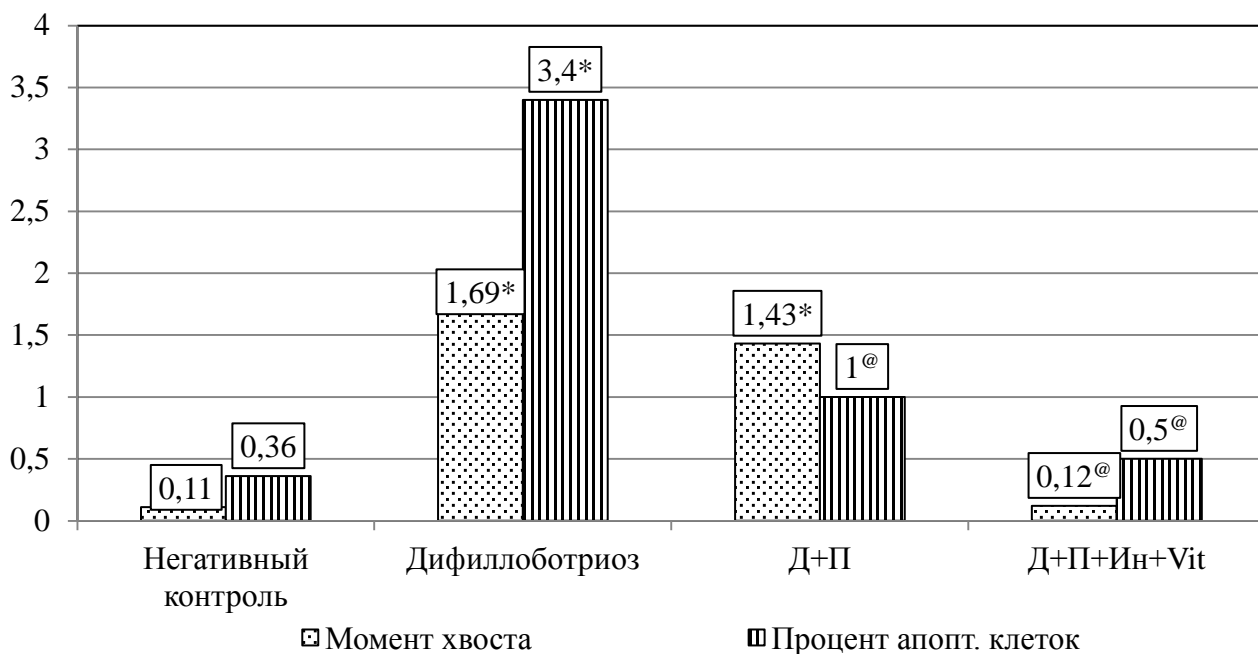


Рис. 5.21. Показатели “момента хвоста” и процента апоптотических клеток лимфоцитов периферической крови пациентов с дифиллоботриозом до и после комбинированного лечения празиквантелом (П), индометацином (Ин), комплексом витаминов с Se и пищеварительным ферментным препаратом (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных доноров крови, @ – от данных до лечения при $P < 0,01-0,05$.

контрольный уровень в 4,8 раза. Процент ДНК в “хвостах комет” был в 5,4 раза выше контрольного уровня. Основной показатель генотоксичности в лимфоцитах периферической крови не отличался от данных, полученных до лечения, но в то же время в 13 раз превышал контрольный показатель. Уровень апоптотических клеток был ниже в 3,4 раза, чем до лечения, и не отличался от данных контрольной группы.

У пациентов с дифиллоботриозом, получавших празиквантел, индометацин, комплекс витаминов-антиоксидантов с Se и пищеварительным ферментным препаратом на 30-й день было установлено, что длина “хвостов комет” не отличалась от показателя доноров крови и в 4,6 раза снизилась по сравнению с данными до лечения (Рис. 5.20). Процент ДНК в “хвостах комет” также достоверно не изменялся в сравнении с контрольными значениями и в 5,4 раза был ниже, чем этот показатель до лечения. Отмечалось также снижение “момента хвоста” лимфоцитов периферической крови в 8,9 раза по сравнению с данными до лечения и этот показатель не превышал контрольный уровень (Рис. 5.21). Уровень апоптотических клеток не отличался от показателей доноров крови и достоверно в 6,8 раз был меньше чем до лечения [64].

На основании проведенных исследований нами разработаны и утверждены Министерством здравоохранения инструкция по применению “Комбинированный способ лечения дифиллоботриоза” и протокол обследования и лечения пациентов с дифиллоботриозом [87].

Выясняли влияние терапии гименолепидоза празиквантелом, фенасалом, альбендазолом, индометацином, ибупрофеном и комплексом витаминов (С, Е, β -каротин) с Se и их сочетаниями на изменения показателей щелочного гель-электрофореза изолированных клеток, а также интенсивность инвазии на имагинальной стадии развития карликовых цепней [28].

Опыты проведены на 175 мышах, которые были разделены на две группы. Первая группа включала 75 мышей и была контролем на введение препаратов. Она состояла из пятнадцати подгрупп по 5 животных в каждой, которые были выделены в зависимости от

вводимых препаратов и их комбинаций. Животных умерщвляли на 4-й день от начала введения препаратов.

Вторая группа включала 100 мышей, заражённых инвазионными яйцами карликовых цепней в дозе 20 яиц/г и пролеченных на имагинальной стадии инвазии с 11-го по 13-й дни от заражения. Инвазированные животные были разбиты на десять подгрупп по 5 мышей в каждой: интактный контроль, чистая инвазия, лечение инвазии празиквантелом, фенасалом, альбендазолом, празиквантелом с индометацином, празиквантелом с ибупрофеном, празиквантелом с комплексом витаминов, фенасалом с индометацином, фенасалом с ибупрофеном, фенасалом с комплексом витаминов, альбендазолом с индометацином, альбендазолом с ибупрофеном, альбендазолом с комплексом витаминов, празиквантелом с индометацином и комплексом витаминов, празиквантелом с ибупрофеном и комплексом витаминов, фенасалом с индометацином и комплексом витаминов, фенасалом с ибупрофеном и комплексом витаминов, альбендазолом с индометацином и комплексом витаминов, альбендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов.

Изучено влияние сочетанной специфической (празиквантел, фенасал, альбендазол), патогенетической (индометацин, ибупрофен), антиоксидантной (витамины С, Е и β -каротин с селеном) терапии на состояние генома хозяина и интенсивность инвазии при гименолепидозе у мышей, зараженных в дозе 20 яиц/г массы тела на имагинальной стадии развития (с 11-х по 13-е сутки) карликовых цепней. Введение животным контрольных подгрупп всех препаратов и их комбинаций не приводило к достоверному росту “момента хвоста” клеток костного мозга и апоптотических клеток по сравнению с данными интактного контроля, за исключением введения отдельно фенасала. Фенасал обладал генотоксическим воздействием и повышал “момент хвоста” в 3,66 раза по сравнению с данными интактного контроля.

Применение комбинированной терапии экспериментального гименолепидоза средней тяжести показало, что однократное применение празиквантеля, фенасала или альбендазола на имагинальной стадии развития паразитов не может полностью защитить геном клеток хозяина от генотоксического и цитотоксического воздействия секреторно-экскреторно-соматических

продуктов карликовых цепней. Это подтверждалось сохранением высоких уровней “момента хвоста” клеток костного мозга, а также сохранением половозрелых паразитов в тонком кишечнике зараженных животных. Наименее эффективным оказалось применение альбендазола, который достоверно не снижал число паразитов в кишечниках инвазированных животных по сравнению с данными чистой инвазии и при его применении не снижалось число апоптотических клеток до уровня интактного контроля.

Комбинированная терапия празиквантелом, фенасалом или альбендазолом с индометацином, ибупрофеном или комплексом витаминов с Se более значительно снижала генотоксические и цитотоксические воздействия инвазии карликовыми цепнями, чем назначение только одного антигельминтика. Однако абсолютные величины “момента хвоста” клеток костного мозга и процент апоптотических клеток превышали показатели интактного контроля. При комбинированной терапии фенасалом или альбендазолом с индометацином или ибупрофеном и комплексом витаминов с Se процент апоптотических клеток достигал уровня негативного контроля, но “момент хвоста” клеток костного мозга был выше показателя интактных животных. В кишечнике этих животных сохранялось незначительное количество паразитов. Назначение празиквантеля с индометацином или ибупрофеном в комбинации с комплексом витаминов с Se на имагинальной стадии развития паразитов оказалось более эффективным способом защиты генома хозяина, чем применение других комбинаций препаратов. Назначение празиквантеля с индометацином в комбинации с комплексом витаминов с Se приводила к более интенсивному снижению “момента хвоста”, процента апоптотических клеток до показателей интактного контроля. Кроме того, у зараженных животных, получавших эту комбинацию препаратов, было отмечено максимальное снижение числа паразитов в кишечнике по сравнению с инвазированными нелечеными животными. Этот эффект был обусловлен более сильным антигельминтным действием празиквантеля по сравнению с фенасалом и альбендазолом [28].

Разработка способа терапии гименолепидоза человека празиквантелом с индометацином или ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом, содержащем витамины C, E, β -

каротин с селеном проводились на 16 пациентах с гименолепидозом, из которых 10 (первая группа) в возрасте от 6 до 11 лет и 6 (вторая группа) в возрасте от 25 до 36 лет, которые были разделены на две группы [28]. Первая группа была разделена на две подгруппы по 5 человек. Первая подгруппа получала только празиквантел, вторая – сочетанную терапию празиквантелом с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с Se. Вторая группа в возрасте от 25 до 36 лет была разделена на две подгруппы по 3 человека. Первая подгруппа получала только празиквантел, вторая – сочетанную терапию празиквантелом с индометацином и витаминным антиоксидантным комплексом с Se. Последний назначали совместно с индометацином в течение 3 дней.

После лечения детей только празиквантелом “момент хвоста” лимфоцитов периферической крови был ниже в 1,94 раза, чем до лечения, однако в 7,75 раза превышал контрольный показатель. Уровень апоптотических клеток не превышал этот показатель до лечения, а также контрольной группы.

У детей, пролеченных празиквантелом в сочетании с ибупрофеном и комплексом витаминов-антиоксидантов, на 10-12 сутки наблюдалось снижение “момента хвоста” лимфоцитов периферической крови в 4,89 раза по сравнению с данными до лечения и этот показатель не превышал контрольный уровень. Уровень апоптотических клеток не отличался от контрольного показателя и данных, полученных до лечения.

При лечении гименолепидоза у взрослых пациентов, которые получали только празиквантел, “момент хвоста” лимфоцитов периферической крови был ниже в 1,65 раза, чем до лечения, однако в 3,58 раза превышал контрольный показатель. Уровень апоптотических клеток не изменялся.

У пациентов, получавших празиквантел, индометацин и комплекс витаминов-антиоксидантов, отмечалось снижение “момента хвоста” лимфоцитов периферической крови в 5,07 раза по сравнению с данными до лечения и этот показатель не превышал контрольный уровень. Уровень апоптотических клеток не изменялся [28].

На основании проведенных экспериментальных и клинических исследований, проведенных исследований нами разработана и утверждена Министерством здравоохранения инструкция по

применению “Способ лечения гименолепидоза, включающий специфическую, патогенетическую и антиоксидантную терапию” и протокол обследования и лечения больных гименолепидозом [138].

Разработка способа терапии аскаридоза человека антигельминтиком с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом, содержащем витамины С, Е, β -каротин с селеном проводились на 23 пациентах с аскаридозом в возрасте от 6 до 15 лет [137]. Пациенты были разделены на четыре группы. Первая группа получала монотерапию мебендазолом, вторая – монотерапию альбендазолом, третья – комбинированную терапию мебендазолом с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с Se, четвертая – комбинированную терапию альбендазолом с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с Se.

Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток лимфоцитов доноров и пациентов с аскаридозом приведены на рисунках 5.22–5.23.

Показано, что применение монотерапии мебендазолом для лечения аскаридоза приводит к снижению генотоксического эффекта в лимфоцитах крови пациентов, но эти величины достоверно превышают показатели доноров крови. Монотерапия мебендазолом не изменяет высокий уровень апоптотических клеток и не способствует полной дегельминтизации. Применение для лечения аскаридоза монотерапии альбендазолом элиминирует генотоксический эффект инвазии, но не устраняет ее цитотоксический эффект. Лечение аскаридоза мебендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов с Se не может полностью снизить генотоксический эффект инвазии аскаридами в лимфоцитах крови человека. Это характеризуется повышением процента ДНК в “хвостах комет” в 1,6 раза, “момента хвоста” в 1,6 раза по сравнению с контролем. Наиболее эффективным способом защиты генома больных аскаридозом обладает комбинированное лечение альбендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов С, Е, β -каротин с Se. Эта схема терапии приводит к снижению уровней первичных повреждений ДНК и апоптотических клеток до показателей доноров крови и полной дегельминтизации пациентов [137].

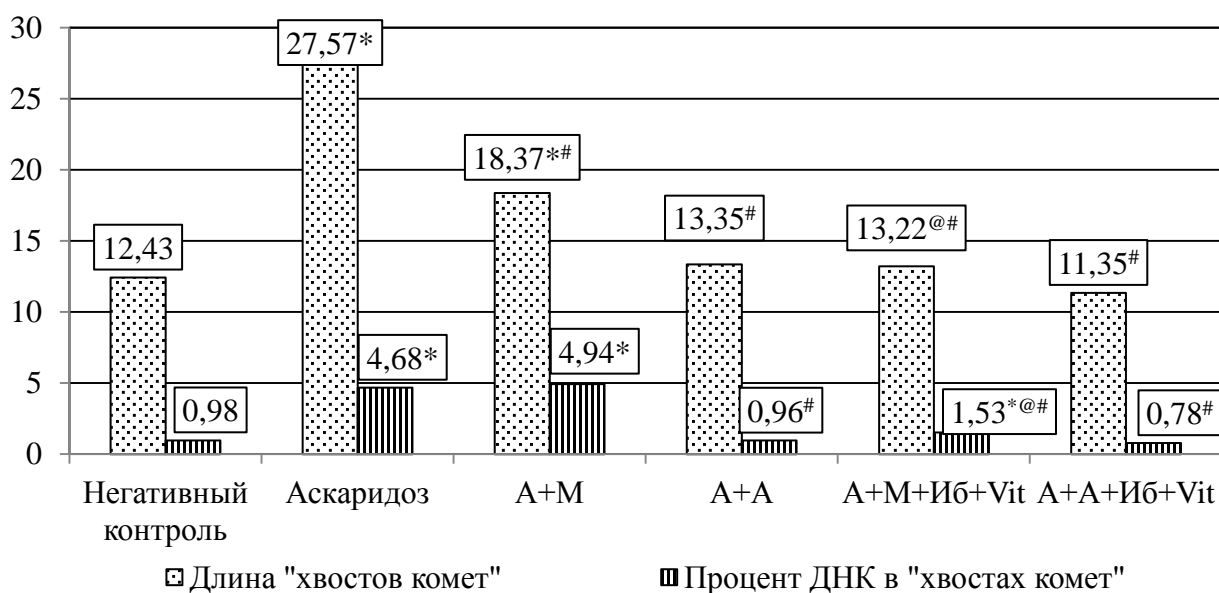


Рис. 5.22. Показатели генотоксичности изолированных клеток лимфоцитов периферической крови пациентов с аскаридозом при терапии мебендазолом (М), альбендазолом (А), ибупрофеном (Иб) и комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * - достоверное отличие от данных контроля, # - от данных пациентов до лечения, @ - от данных пациентов, получавших терапию только мебендазолом или альбендазолом при $P < 0,01-0,05$.

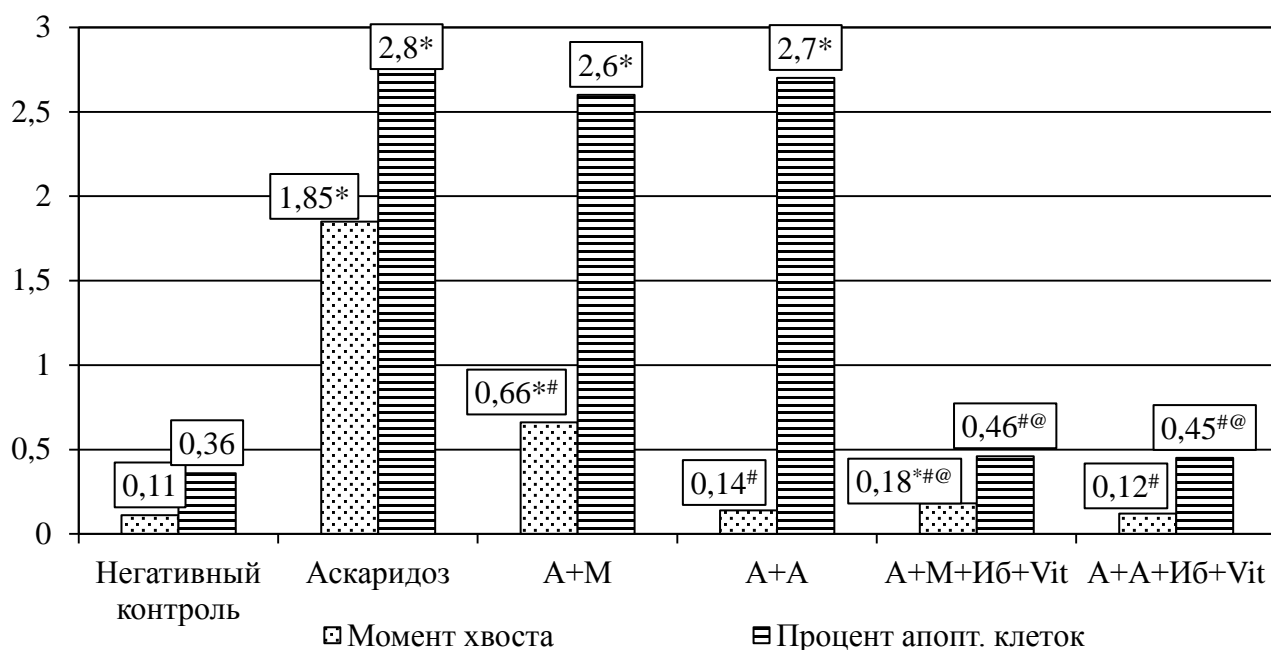


Рис. 5.23. Показатели "момента хвоста" и процента апоптотических клеток лимфоцитов периферической крови пациентов с аскаридозом при терапии мебендазолом (М), альбендазолом (А), ибупрофеном (Иб) и комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * - достоверное отличие от данных контроля, # - от данных пациентов до лечения, @ - от данных пациентов, получавших терапию только мебендазолом или альбендазолом при $P < 0,01-0,05$.

Таким образом, было установлено, что наиболее эффективным способом защиты генома больных аскаридозом обладает комбинированное лечение альбендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов С, Е, β -каротин с Se [137]. Эта схема терапии приводит к снижению уровней первичных повреждений ДНК и апоптотических клеток до показателей доноров крови. На основании исследований нами разработаны и утверждены Министерством здравоохранения инструкции на “Комбинированный метод лечения аскаридоза” [82].

Комплексное лечение трихоцефалеза мебендазолом или альбендазолом в сочетании с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с селеном на основе учета клинических симптомов инвазии и новых аспектов ее патогенеза при привлечении 23 пациентов с трихоцефалезом [32]. Пациенты были разделены на четыре группы. Первая группа получала монотерапию мебендазолом, вторая – монотерапию альбендазолом, третья – комбинированную терапию мебендазолом с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с Se, четвертая – комбинированную терапию альбендазолом с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с Se.

Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток лимфоцитов доноров и пациентов с трихоцефалезом приведены на рисунках 5.24–5.27.

Установлено, что применение монотерапии мебендазолом для лечения трихоцефалеза приводит к снижению генотоксического эффекта в лимфоцитах крови пациентов, но эти величины достоверно превышают показатели доноров крови. Монотерапия мебендазолом не изменяет высокий уровень апоптотических клеток, который превышает показатель доноров крови. Применение для лечения трихоцефалеза монотерапии альбендазолом элиминирует генотоксический эффект инвазии, но не устраняет ее цитотоксическое воздействие. Лечение трихоцефалеза мебендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов с селеном не может полностью снизить генотоксический эффект инвазии власоглавами в лимфоцитах крови человека, так как при этой схеме терапии повышается процент ДНК в “хвостах комет” в 1,4 раза, “момент хвоста” в 1,2 раза по сравнению с данными доноров крови. Комбинированное лечение пациентов с три-

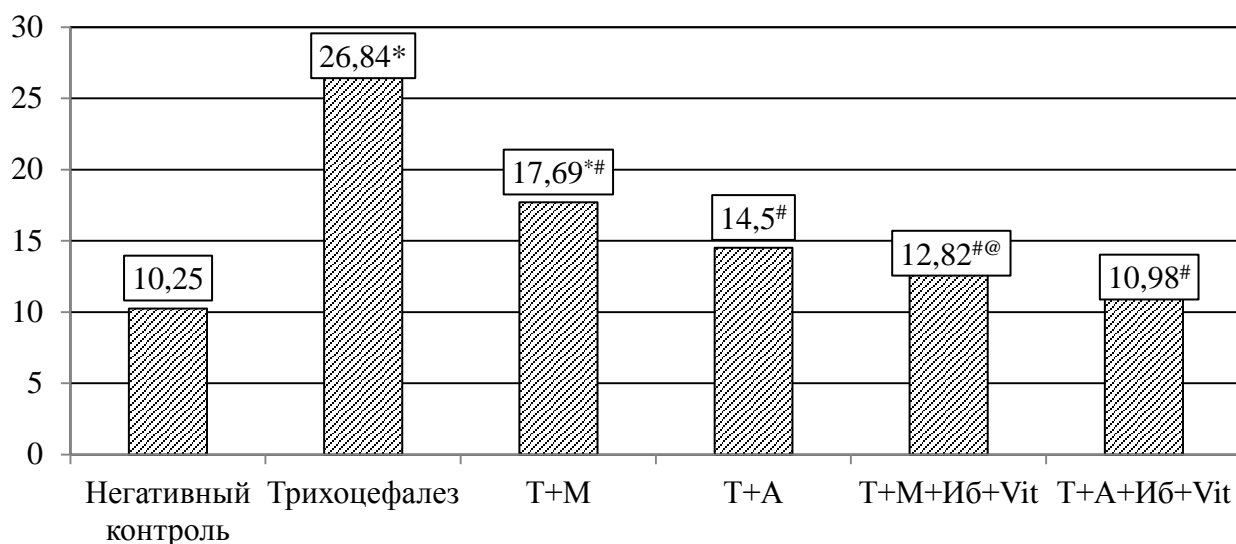


Рис. 5.24. Длина "хвостов комет" клеток лимфоцитов периферической крови пациентов с трихоцефалезом при лечении мебендазолом (М), альбендазолом (А), ибупрофеном (Иб), комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных контроля, # – от данных пациентов до лечения, @ – от данных пациентов, получавших терапию только мебендазолом или альбендазолом при $P < 0,01-0,05$.

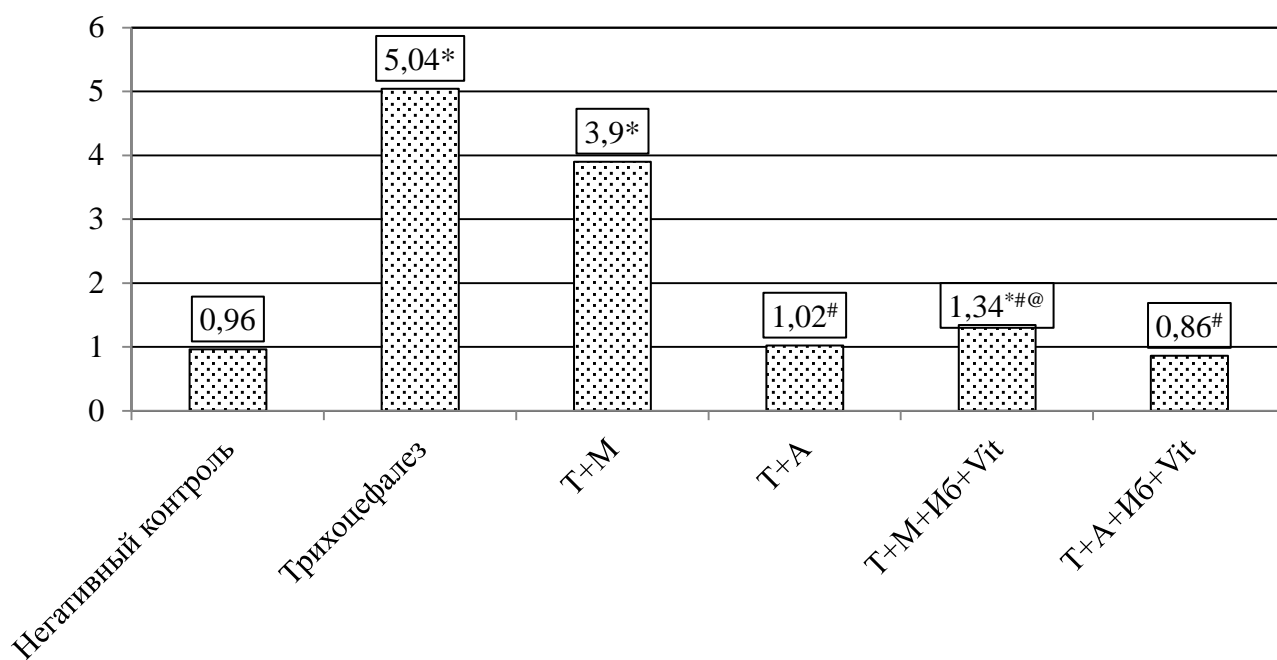


Рис. 5.25. Процент ДНК в "хвостах комет" клеток лимфоцитов периферической крови пациентов с трихоцефалезом при лечении мебендазолом (М), альбендазолом (А), ибупрофеном (Иб), комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных контроля, # – от данных пациентов до лечения, @ – от данных пациентов, получавших терапию только мебендазолом или альбендазолом при $P < 0,01-0,05$.

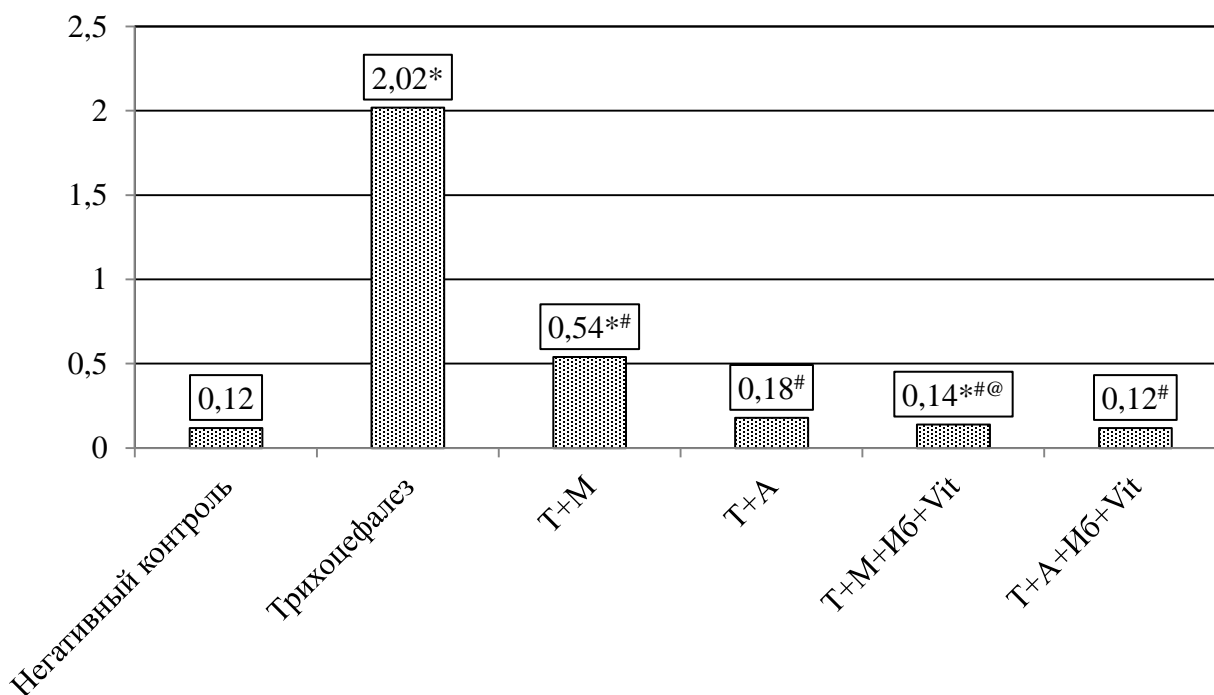


Рис. 5.26. “Момент хвоста” комет клеток лимфоцитов периферической крови пациентов с трихоцефалезом при лечении мебендазолом (М), альбендазолом (А), ибупрофеном (Иб), комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных контроля, # – от данных пациентов до лечения, @ – от данных пациентов, получавших терапию только мебендазолом или альбендазолом при $P < 0,01-0,05$.

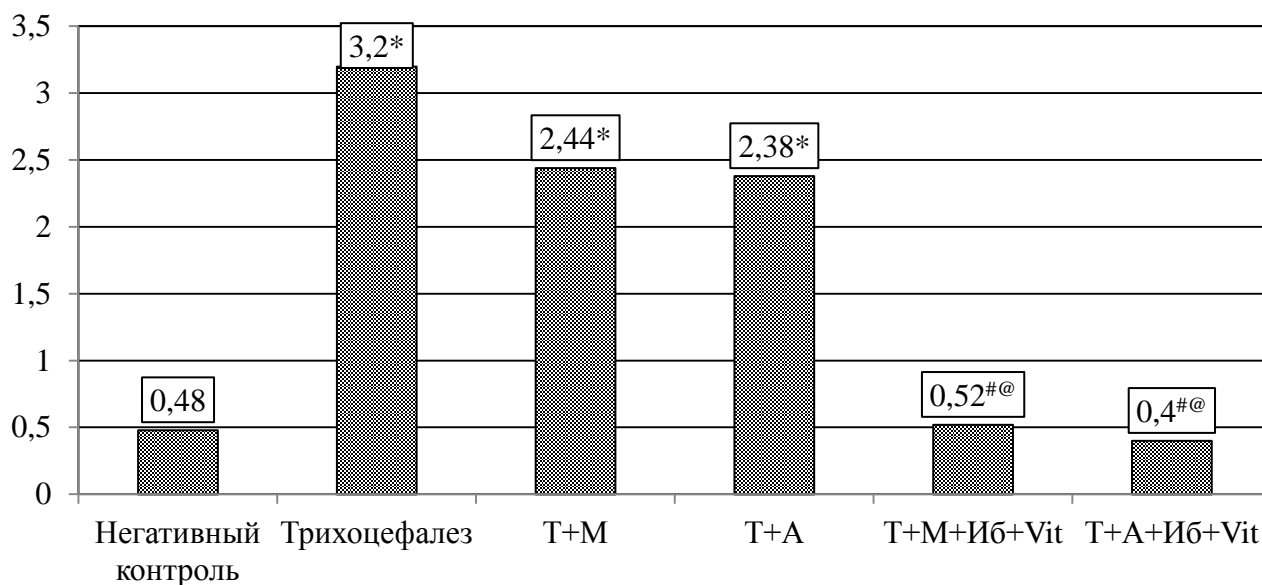


Рис. 5.27. Процент апоптотических клеток лимфоцитов периферической крови пациентов с трихоцефалезом при лечении мебендазолом (М), альбендазолом (А), ибупрофеном (Иб), комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных контроля, # – от данных пациентов до лечения, @ – от данных пациентов, получавших терапию только мебендазолом или альбендазолом при $P < 0,01-0,05$.

хоцефалезом альбендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов С, Е, β-каротин с селеном наиболее эффективный способ защиты генома. Эта схема терапии приводила к снижению уровней первичных повреждений ДНК и апоптотических клеток до показателей доноров крови. Повторного назначения монотерапии или комбинированной терапии не потребовалось [32].

Проведенные исследования послужили основанием для разработки комбинированного метода лечения трихоцефалеза, включающего назначение альбендазола (1 день) или мебендазола (3 дня) в сочетании с ибупрофеном (3 дня) и комплексом витаминов с Se (3 дня). На основании исследований нами разработана и утверждена Министерством здравоохранения инструкция на “Комбинированный метод лечения трихоцефалеза” [85].

Изучение показателей метода “ДНК-комет” при комбинированном лечении проводили у 51 пациента с висцеральным токсокарозом (29 мальчиков и 22 девочки) в возрасте от 2,8 до 8 лет, которые были разделены на шесть групп [124]. Первая группа получала монотерапию мебендазолом, вторая – монотерапию альбендазолом, третья – комбинированную терапию мебендазолом в сочетании с фенкаролом и витаминным антиоксидантным комплексом с Se и далее через 2 месяца – мебендазолом с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с Se; четвертая – комбинированную терапию – альбендазолом в сочетании с фенкаролом и витаминным антиоксидантным комплексом с Se и далее через 2 месяца альбендазолом с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с Se; пятая – комбинированную терапию мебендазолом в сочетании с фенкаролом и витаминным антиоксидантным комплексом с Se и далее через 2 месяца альбендазолом с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с Se; шестая получала 2 курса лечения с промежутком в 2 месяца, каждый из курсов терапии состоял из назначения мебендазола в сочетании с фенкаролом и витаминным антиоксидантным комплексом с Se и далее альбендазолом с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с Se.

Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток лимфоцитов доноров и больных висцеральным токсокарозом приведены в таблице 5.1.

Применение мебендазола для терапии висцерального токсокароза в течение 3-4-х 20 дневных курсов приводит к снижению генотоксических и цитотоксических эффектов в лимфоцитах крови больных, но эти величины достоверно превышают показатели доноров крови. Так при лечении мебендазолом “длина хвостов комет” лимфоцитов больных висцеральным токсокарозом в 3,73 раза, процент ДНК в “хвостах комет” – в 3,23 раза, “момент хвоста” – в 5,5 раза, процент апоптотических клеток в 2,78 раза были выше контрольных показателей. При терапии альбендазолом в течение 3-4-х 20 дневных курсов не происходит полного снижения генотоксического и цитотоксического воздействий паразитирования личинок собачьей аскариды по сравнению с данными до лечения, которое характеризуется сохранением высокого процента ДНК в “хвостах комет”, “момента хвоста” и повышением числа апоптотических клеток. Применение для лечения 3-х 20 - дневных курсов альбендазола с фенкаролом, ибупрофеном и комплексом витаминов с Se не может полностью снизить генотоксический эффект инвазии личинками собачьей аскариды в лимфоцитах человека. Это характеризуется повышением показателей щелочного гель-электрофореза изолированных клеток по сравнению с данными контроля (“длины хвостов комет” в 1,72 раза, процента ДНК в “хвостах комет” в 1,73 раза, “момента хвоста” в 2,17 раза). Процент апоптотических клеток лимфоцитов крови после лечения альбендазолом с фенкаролом, ибупрофеном и комплексом витаминов с Se достоверно не отличался от контрольного уровня.

Комбинированное лечение мебендазолом с фенкаролом, ибупрофеном и комплексом витаминов с Se больных висцеральным токсокарозом в течение 3-х 20 дневных курсов служит эффективным способом защиты генома человека, так как приводит к снижению уровней первичных повреждений ДНК и апоптотических клеток до показателей доноров крови.

Вышеприведенные данные послужили основанием для разработки инструкции по применению на “Комбинированный способ лечения висцерального токсокароза” [86], включающего 2 курса терапии с промежутком в 2 месяца, состоящих из назначения мебендазола (20 дней) в сочетании с фенкаролом (10 дней) и витаминным антиоксидантным комплексом с селеном (10 дней) и да-

Таблица 5.1

**Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных
клеток лимфоцитов периферической крови пациентов с
висцеральным токсокарозом до и после комбинированного
лечения**

Группа исследований \ Исследуемый показатель	n	Длина “хвостов комет” (в пикселях)	Процент ДНК в “хвостах комет”	“Момент хвоста”	Процент апопто- тических клеток
Негативный контроль (доноры крови)	20	4,31±0,18	1,43±0,54	0,13±0,04	0,37±0,50
Висцеральный токсокароз	41	24,87±3,42*	7,18±1,76*	1,54±0,57*	2,90±1,23*
Лечение мебендазолом	7	13,57±4,20* [#]	4,94±0,81* [#]	0,66±0,22* [#]	1,00±0,82* [#]
Лечение альбендазолом	8	16,32±3,23* [#]	7,56±0,88*	1,37±0,27*	3,73±0,49* [#]
Лечение мебендазолом с фенкаролом, ибупрофеном и комплексом витаминов с Se	8	6,32±1,97 ^{#@}	2,03±0,52 ^{#@}	0,15±0,06 ^{#@}	0,46±0,69 [#]
Лечение альбендазолом с фенкаролом, ибупрофеном и комплексом витаминов с Se	10	6,25±0,96* ^{#@}	2,65±1,27* ^{#@}	0,26±0,09* ^{#@}	0,50±0,58 ^{#@}
Лечение мебендазолом (30 дней) с фенкаролом и далее через 2 месяца альбендазолом (30 дней) с ибупрофеном и комплексом витаминов с Se	8	4,25±0,16 ^{#@}	1,54±0,38 ^{#@}	0,16±0,07 ^{#@}	0,50±0,68 ^{#@}
Лечение мебендазолом (20 дней) с фенкаролом и далее альбендазолом (10 дней) с ибупрофеном и комплексом витаминов с Se	10	5,11±0,18 ^{#@}	2,01±0,71 ^{#@}	0,11±0,03 ^{#@}	0,40±0,16 ^{#@}

Примечание: * - достоверное отличие от данных контроля, [#] - от данных больных до лечения, [@] - от данных больных, получавших терапию только мебендазолом или альбендазолом при P<0,01-0,05.

лее альбендазолом с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с Se в течение 10 дней. Предлагаемый способ лечения позволяет повысить клиническую эффективность терапии больных

висцеральным токсокарозом до 100 %, избежать побочных осложнений и предупредить повреждения генома больного [124].

Разработка комбинированного метода лечения трихинеллеза человека при исследовании периферической крови 31 пациента со средней тяжестью трихинеллеза [103]. Пациенты были разделены на четыре группы. Первая группа получала монотерапию мебендазолом, вторая – монотерапию альбендазолом, третья – комбинированную терапию мебендазолом в сочетании с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с Se; четвертая – комбинированную терапию альбендазолом в сочетании с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с Se.

Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток лимфоцитов доноров и пациентов с трихинеллезом средней степени тяжести приведены на рисунках 5.28–5.31.

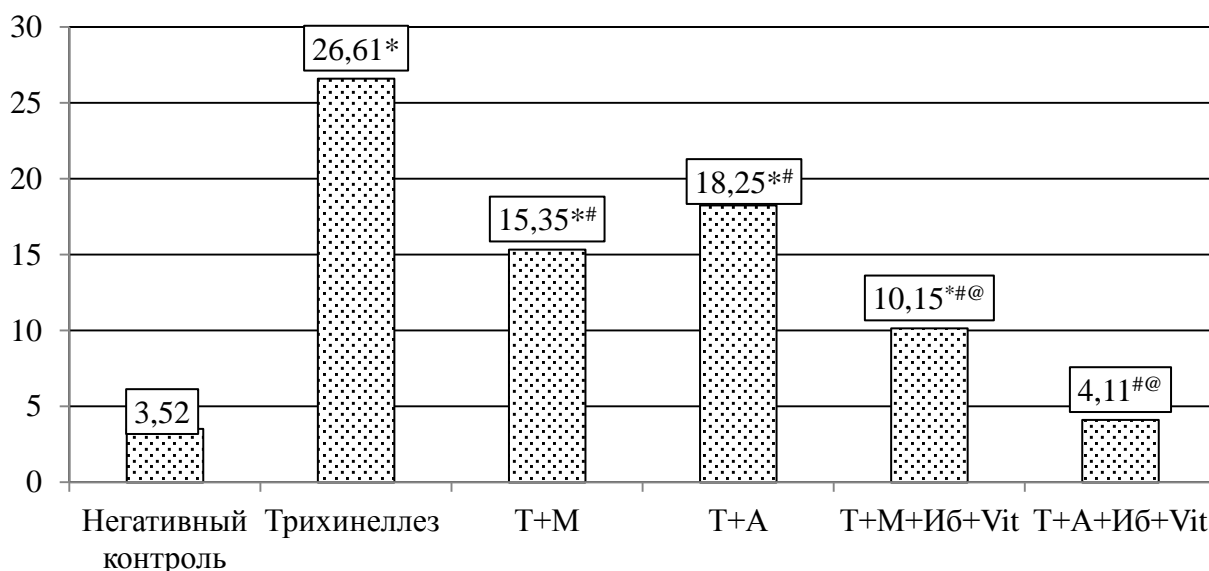


Рис. 5.28. Длина «хвостов комет» клеток лимфоцитов периферической крови пациентов с трихинеллезом средней тяжести до и после лечения мебендазолом (М), альбендазолом (А), ибупрофеном (Иб) и комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных контроля, # – от данных пациентов до лечения, @ – от данных пациентов, получавших терапию только мебендазолом или альбендазолом при $P < 0,01-0,05$.

«Длина хвостов комет» лимфоцитов периферической крови пациентов с трихинеллезом средней тяжести была достоверно выше контрольного уровня в 7,6 раз. Процент ДНК в «хвостах комет» (9,8 %) был выше в 75,7 раз по сравнению с негативным контролем. «Момент хвоста» превысил в 21 раза показатель контроля. Процент

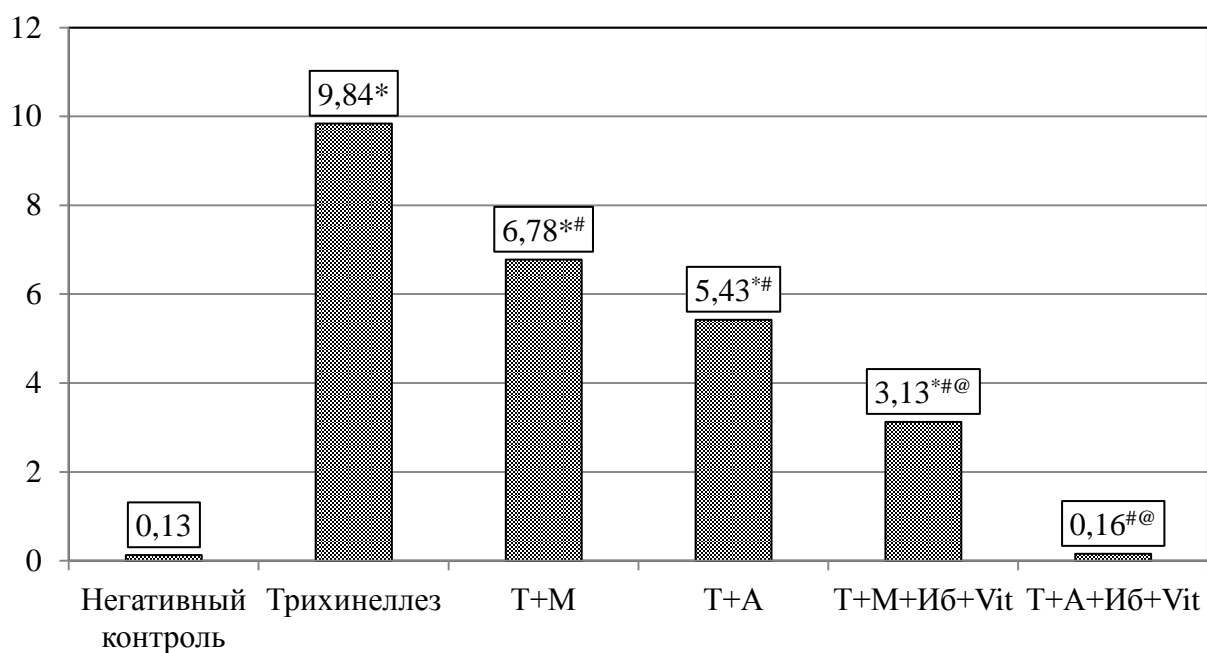


Рис. 5.29. Процент ДНК в “хвостах комет” клеток лимфоцитов периферической крови пациентов с трихинеллезом средней тяжести до и после лечения мебендазолом (М), альбендазолом (А), ибупрофеном (Иб) и комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных контроля, # – от данных пациентов до лечения, @ – от данных пациентов, получавших терапию только мебендазолом или альбендазолом при $P < 0,01-0,05$.

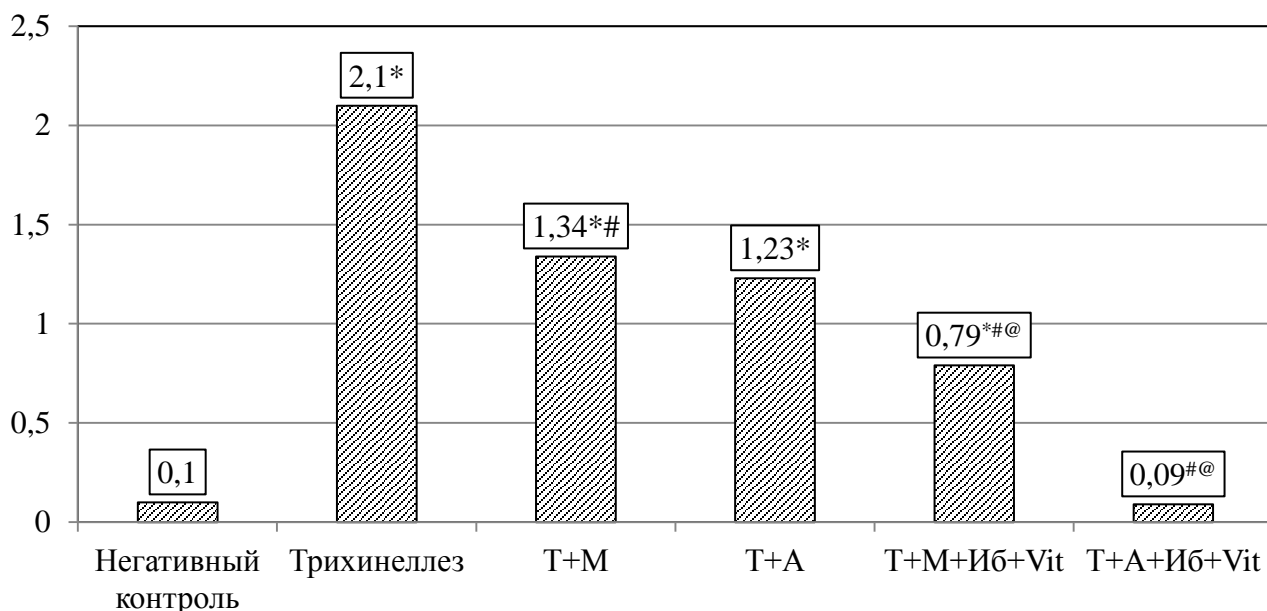


Рис. 5.30. “Момент хвоста” комет клеток лимфоцитов периферической крови пациентов с трихинеллезом средней тяжести до и после лечения мебендазолом (М), альбендазолом (А), ибупрофеном (Иб) и комплексом витаминов с Se (Vit).

Примечание: * – достоверное отличие от данных контроля, # – от данных пациентов до лечения, @ – от данных пациентов, получавших терапию только мебендазолом или альбендазолом при $P < 0,01-0,05$.

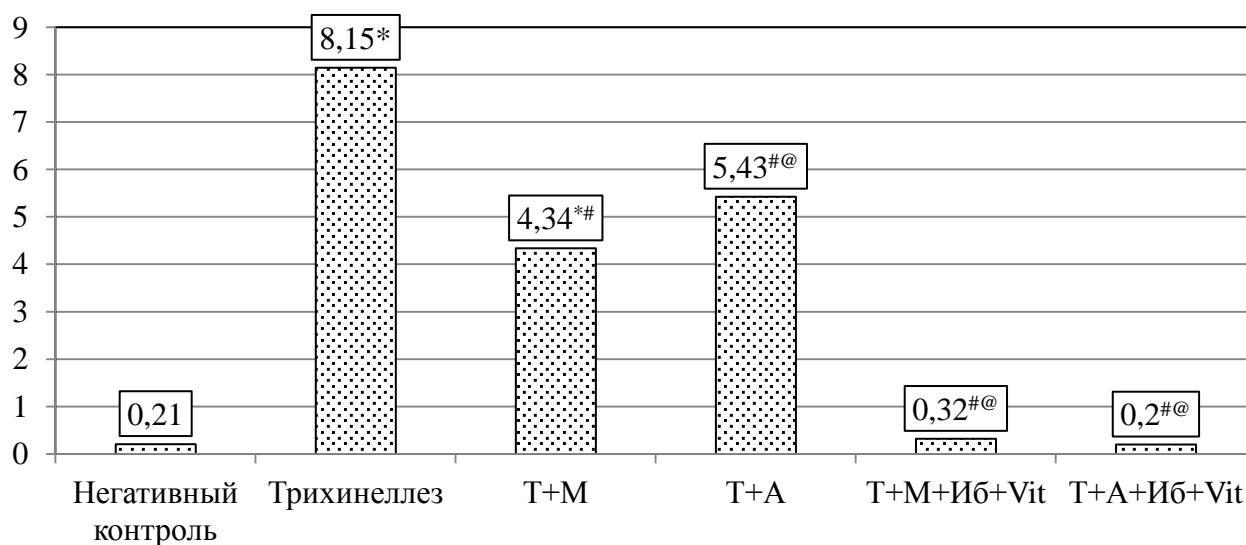


Рис. 5.31. Процент апоптотических клеток лимфоцитов периферической крови пациентов с трихинеллезом средней тяжести до и после лечения мебендазолом (М), альбендазолом (А), ибупрофеном (Иб) и комплексом витаминов с Se (Vit)

Примечание: * – достоверное отличие от данных контроля, # – от данных пациентов до лечения, @ – от данных пациентов, получавших терапию только мебендазолом или альбендазолом при $P < 0,01-0,05$.

апоптотических клеток крови был выше в 38,8 раза по сравнению с негативным контролем.

После лечения мебендазолом “длина хвостов комет” лимфоцитов крови пациентов с трихинеллезом была ниже в 1,7 раза данных до лечения, но в 4,4 раза превышала показатель негативного контроля. Процент ДНК в “хвостах комет” у пациентов с трихинеллезом средней тяжести в 52,2 раза превысил контрольный уровень и в 1,5 раза был ниже по сравнению с данными до лечения. “Момент хвоста” лимфоцитов был выше контрольного уровня в 13,4 раз, а также был меньше в 1,6 раза, чем до лечения. Процент апоптотических клеток был ниже в 1,9 раза по отношению к данным, полученным до лечения, и в 20,7 раза превышал показатель доноров крови.

После лечения альбендазолом “длина хвостов комет” превысила показатель негативного контроля в 5,2 раз и в 1,5 раза была меньше, чем до лечения. Процент ДНК в “хвостах комет” превысил контрольный показатель в 41,8 раз и достоверно был меньше в 1,8 раза по сравнению с данными, полученными до лечения. “Момент хвоста” лимфоцитов пациентов с трихинеллезом превысил показатель контроля в 12,3 раза и достоверно был меньше в 1,7 раза по отношению к данным до лечения. Процент апоптотических клеток в

25,9 раза был выше данных контроля и в 1,5 раза снизился при сравнении с данными, полученными до лечения.

При лечении мебендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов с Se “длина хвостов комет” лимфоцитов пациентов с трихинеллезом была ниже в 2,6 и 1,5 раза данных до лечения и терапии только мебендазолом. Данный показатель достоверно в 2,9 раза превысил контрольный уровень. Процент ДНК в “хвостах комет” у пациентов с трихинеллезом при комбинированном лечении в 3,1 раза был ниже данных, полученных до лечения, и в 2,2 раза был ниже по сравнению с данными лечения только мебендазолом. Однако этот показатель в 24 раза достоверно превышал показатель доноров крови. “Момент хвоста” у пациентов с трихинеллезом при комбинированном лечении в 2,7 раза был ниже данных, полученных до лечения, и в 1,7 раза был ниже по сравнению с данными лечения только мебендазолом. Однако “момент хвоста” лимфоцитов пациентов достоверно в 7,9 раза превышал показатель доноров крови. Процент апоптотических клеток лимфоцитов крови при лечении трихинеллеза мебендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов с Se достоверно не отличался от контрольного уровня.

После лечения “длина хвостов комет” лимфоцитов пациентов с трихинеллезом снизилась и не превышала контрольный уровень. Процент ДНК в “хвостах комет” и “момент хвоста” лимфоцитов крови у пациентов с трихинеллезом после комбинированного лечения достоверно не превышал показатель доноров крови. Процент апоптотических клеток лимфоцитов крови при лечении трихинеллеза альбендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов с Se достоверно не отличался от контрольного уровня [103].

Вышеприведенные данные послужили основанием для разработки инструкции по применению “Комбинированный метод лечения трихинеллеза”, включающей: при легкой степени тяжести назначение альбендазола (7 дней); при средней степени тяжести назначение альбендазола (7 дней) в сочетании с ибупрофеном (5 дней) и комплексом витаминов с Se (7 дней); при тяжелой степени назначения альбендазола (14 дней) в сочетании с ибупрофеном (10 дней), хифенадином гидрохлоридом (10 дней) с комплексом витаминов с Se (7 дней) [84].

Применение для дегельминтизации празиквантела при трематодозах (описторхоз), цестодозах (тениидозы, дифиллоботриоз, гименолепидоз), мебендазола, альбендазола при нематодозах (аскаридоз, трихоцефалез, висцеральный токоскароз, трихинеллез) у экспериментальных животных и человека на имагинальной или личиночной стадиях развития паразитов не может полностью защитить геном соматических клеток хозяина от генотоксического или цитотоксического воздействия секреторно-экскреторно-соматических продуктов паразитических червей, а также в 50-60 % случаев для устранения основных симптомов заболеваний требует повторного назначения антигельминтика. Это подтверждалось сохранением высоких уровней ППЯ ДНК до $4,43 \pm 2,14$ % или апоптоза соматических клеток костного мозга животных, крови, а также сохранением половозрелых паразитов в тонком кишечнике зараженных животных.

Комбинированное лечение гельминтозов антигельминтиком с нестероидным противовоспалительным препаратом (ибупрофеном, индометацин), хифенодином гидрохлоридом при висцеральном токсокарозе, пищеварительным ферментативным препаратом, содержащим липазу, амилазу при тениидозах, дифиллоботриозе и комплексом витаминов С, Е, β -каротин с Se приводит к полной элиминации клинических и лабораторных проявлений инвазий, не требует проведения повторных курсов лечения, а также эффективно увеличивает репарацию ядерной ДНК, редукцию апоптоза соматических клеток млекопитающих и человека с гельминтозами, так как приводит к снижению уровней ППЯ ДНК и апоптотических клеток до показателей интактного контроля.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При изучении распространенности наиболее встречаемых гельминтов в Республике Беларусь установлено, что среди 293 861 окончательных хозяев для паразитов 748 поражены цестодами, трематодами и нематодами (0,255 %). Обнаружено 0,043 % случаев гименолепидоза (16 из 37 637 хозяев), 0,034 % – тениидозов (32 из 69 715 хозяев), 0,035 % – дифиллоботриоза (27 из 75 840 хозяев), 2,610 % – трихинеллеза (49 из 1 877 хозяев), 0,159 % – описторхоза (52 из 32 778 хозяев), 0,270 % – трихоцефалеза (148 из 55 433 хозяев), 2,060 % – аскаридоза (424 из 20 581 хозяина). Среди 151 561 промежуточных хозяев 100 были поражены цестодами. Обнаружено 0,025 % случаев цистицеркоза (36 из 139 287 хозяев), 0,203 % – нахождения процеркоидов *D. latum* (23 из 11 280 хозяев) и 4,124 % – нахождения плероцеркоидов *D. latum* (41 из 994 хозяев).

За последние 30 лет показано, что кластогенным и анеугенным воздействием на соматические и генеративные клетки хозяина обладают метаболиты личинок карликовых цепней, аскарид, токсокар, трихинелл, вызывая рост цитогенетических повреждений (ХА, микроядродержащие клетки) как в соматических, так и генеративных клетках хозяина. Уровни нарушений в геноме хозяина при гельминтозах зависят от стадий развития паразитов и максимально выражены: на личиночной и имагинальной стадиях развития при гименолепидозе; на 14–28-й дни инвазии при миграционном аскаридозе; 3–21-й инвазии дни при висцеральном токсокарозе; на стадиях миграции и инкапсуляции личинок паразитов при трихинеллезе. От дозы введенного инвазионного материала при заражении зависит тяжесть цитогенетических повреждений в наследственном аппарате клеток сперматогенеза хозяина икратно возрастает при ее увеличении в линейной зависимости.

При применении методов оценки кластогенных и анеугенных повреждений (микроядерный тест, оценка ХА) было установлено, что при гименолепидозе, аскаридозе, висцеральном токсокарозе и трихинеллезе млекопитающих и человека применение антигельминтика (празиквантель, мебендазол, альбендазол) с индометацином и комплексом витаминов антиоксидантного

характера с селеном снижает высокие уровни МЯ, ХА в соматических, генеративных клетках хозяина.

Генотоксическое и цитотоксическое воздействия метаболитов гельминтов на клетки млекопитающих в процессе инвазии методом “ДНК-комет” изучены при трематодозах (описторхоз), цестодозах (гименолепидоз, тениидозы, дифиллоботриоз) и нематодозах (трихинеллез, аскаридоз, висцеральный токсокароз, трихоцефалез). При анализе полученных результатов нами были взяты данные наибольших ППЯ ДНК и апоптоза клеток хозяина при экспериментальных гельминтозах средней степени тяжести (доза заражения не более 20 яиц или личинок на 1 г массы тела).

Показаны достоверные общие закономерности эффектов экспериментальных гельминтозов и инвазий у человека можно: у мышевидных и хомяковых грызунов при гельминтозах в соматических клетках (крови, костного мозга, печени) повреждается $7,21 \pm 2,17$ % ДНК (максимально при трихинеллезе – 8,09 %, минимально при висцеральном токсокарозе – 4,91 %), в клетках периферической крови человека уровень ППЯ ДНК достигает $6,50 \pm 1,86$ % (максимально при трихинеллезе – 9,84 %, минимально при кишечном аскаридозе – 4,34 %); уровни ППЯ ДНК соматических клеток у мышевидных, хомяковых грызунов и человека достоверно не отличаются друг от друга ($P > 0,05$); средний уровень апоптотических клеток периферической крови при гельминтозах человека составляет $3,78 \pm 1,8$ % (максимально при трихинеллезе – 8,15 %, минимально при кишечном аскаридозе – 2,6 %) и достоверно не отличается от контрольного уровня только при гименолепидозе.

Среди специфических закономерностей следует отметить следующие: у мышевидных и хомяковых грызунов при гельминтозах в генеративных клетках (семенники) повреждается $10,30 \pm 2,55$ % ДНК (максимально при миграционном аскаридозе – 13,76 %, минимально при гименолепидозе – 8,16 %), а также генотоксическое воздействие гельминтов на генеративные клетки животных полностью отсутствует при тениидозах и дифиллоботриозе; у мышевидных и хомяковых грызунов при гельминтозах в соматических клетках (крови, костного мозга, печени) уровень апоптоза достигает $6,00 \pm 1,85$ % (максимально при описторхозе – 8,86 %, минимально при висцеральном токсокарозе – 4,00 %), в генеративных клетках

(семенники) – $10,63 \pm 2,04$ % (максимально при трихинеллезе – 12 %, минимально при миграционном аскаридозе – 7,60 %), а также цитотоксическое воздействие гельминтов на клетки животных полностью отсутствует при тениидозах и дифиллоботриозе.

Паразитические простейшие и гельминты представляют серьезную опасность для организма женщины и плода во время беременности. Паразиты могут обладать эмбриотоксическим, фетотоксическим и тератогенным воздействиями на эмбрион или плод, нарушая его развитие или приводя последнего к гибели. При экспериментальном аскаридозе и трихинеллезе паразиты синхронно повреждают геном самок мышей и их эмбрионов, обладая генотоксическим и цитотоксическим воздействиями. По нашему мнению, главным механизмом генотоксического и цитотоксического воздействия гельминтов на соматические и генеративные клетки хозяина служит развитие окислительного и нитрозилирующего стресса. В случае снижения эффективности трансплацентарного барьера или проникновения паразитов через плаценту в эмбрион, возможно нарушение баланса между выработкой активных форм кислорода, монооксида азота и работой системы антиоксидантной защиты в эмбриональных клетках. До сих пор не известно, как перенесенная паразитарная инвазия у беременных млекопитающих и человека влияет на дальнейшее антенатальное и постнатальное развитие потомства. Не изучено полностью состояние генома организма хозяина и возможные эмбриотоксические изменения при специфической, патогенетической и антиоксидантной терапии во время беременности инвазированного гельминтами хозяина. Раскрытие генотоксических, цитотоксических, эмбриотоксических и тератогенных воздействий инвазии гельминтами на клетки млекопитающих даст возможность выявить факторы, определяющие врожденную патологию, объяснить передачу мутаций в генеративных клетках от инвазированных родительских особей потомкам, разработать способы профилактики врожденных уродств у млекопитающих и человека.

Показано, что метаболиты мавританского кошачьего сосальщика, личинок токсокар, аскарид и трихинелл во время беременности хозяина оказывают генотоксическое и цитотоксическое воздействия на соматические клетки (костный мозг) и клетки их эмбрионов

млекопитающих семейств мышевидных и хомяковых грызунов вызывая рост ППЯ ДНК клеток и числа апоптотических клеток.

БСП из тканей описторхисов БСЭСП личинок *T. spiralis* обладают выраженным генотоксическим и цитотоксическим эффектами в соматических и эмбриональных клетках при внутрибрюшинном введении беременным самкам млекопитающим из семейств хомяковые и мышевидные грызуны на стадиях раннего, позднего органогенеза и плодного периода. Это выражается увеличением в эмбриональных клетках процента поврежденной ДНК в 2,12 – 30,5 раза, а также числа апоптотических клеток в 2,63–10,4 раза. Трехкратная подкожная сенсibilизация БСП из тканей *T. solium*, *T. saginatus* в дозах 400 и 800 мкг/г и *D. latum* в дозе 400 и 800 мкг/г сопровождается генотоксическим и цитотоксическим эффектами в соматических клетках костного мозга и генеративных клетках семенников мышей, который характеризуется ростом ППЯ ДНК клеток и уровня апоптоза. Рост ППЯ ДНК, апоптоза клеток зависит от дозы БСП из тканей *T. saginatus* и достоверно возрастает при ее увеличении.

Миграция личинок аскарид, трихинелл у мышевидных грызунов сопровождаются эмбриотоксическим эффектом, который характеризуется ростом пред- и постимплантационной гибели зародышей, уменьшением средней массы эмбрионов и их краниокаудального размера. Трипсиновый, пепсиновый и α -химотрипсиновый ингибиторы из тканей *A. suum* и *A. lumbricoides* обладают эмбриотоксическим и тератогенным действиями, достоверно повышая число погибших эмбрионов мышевидных грызунов и вызывая рост числа зародышей с аномалиями развития. У сенсibilизированных беременных самок снижается масса тела, увеличиваются уровни смертности, вагинальных гемморагий, внутриматочных резорбций [163, 170]. У потомства самок золотистых хомяков и мышевидных грызунов зараженных кошачьими сосальщиками и трихинеллами наблюдается снижение его численности, уменьшение массы тела новорожденных, а также выживаемость потомства на 25-й день после родов.

Пероральное введение одного празиквантела не инвазированным беременным самкам имело достоверное повышение показателя генотоксичности в эмбриональных клетках, а также увеличение роста

пред- постимплантационной гибели по сравнению с данными интактного контроля, при этом показатель цитотоксичности находился на уровне контрольной группы. Пероральное введение мебендазола, альбендазола, пирантела или пиперазина в отдельности, так и сочетано с ибупрофеном, фенкаролом и комплексом витаминов не инвазированным самкам не показало достоверного повышения показателей гено- и цитотоксичности в клетках костного мозга самок и их эмбрионов, а также роста пред- гибели и постимплантационной смертности по сравнению с данными интактного контроля.

При монотерапии празиквантелом экспериментального описторхоза у беременных самок золотистых хомяков значительно увеличились показатели генотоксического, цитотоксического и эмбриотоксического воздействия инвазии на эмбрионы. Значение этих показателей было выше, чем в группе чистой инвазии и группе контроля на введение препарата празиквантель. Применение альбендазола либо мебендазола для терапии трихинеллеза, висцерального токсокароза, альбендазола, мебендазола, пирантела или пиперазина для терапии миграционного аскаридоза у беременных самок крыс не снижает гено- и цитотоксических эффектов инвазий в клетках костного мозга и эмбрионов, а также приводит к достоверному повышению как пред- так и постимплантационной гибели эмбрионов в сравнении с группами интактного контроля и зараженных не леченных животных.

Терапия антигельминтиком описторхоза в сочетании с ибупрофеном уменьшает рост щелочно-лабильных сайтов, одноцепочечных разрывов ядерной ДНК, что указывает на снижения генотоксического эффекта инвазии. Цитотоксический эффект инвазии становится ниже, так как процент апоптотических клеток значительно уменьшается. Уровень предимплантационной и постимплантационной гибели падает, что в свою очередь свидетельствует о снижении эмбриотоксичности.

Лечение трихинеллеза одним из антигельминтиков в сочетании с фенкаролом не снижает показатели гено- и цитотоксического воздействия паразитов на клетки костного мозга и эмбрионов, которые превышают результаты группы интактного контроля и группы самок, инвазированных личинками трихинелл, но не получавшей терапии. Терапия одним из антигельминтиков в

сочетании с ибупрофеном приводит к достоверному снижению показателей цитотоксичности в клетках костного мозга крыс и их эмбрионов до уровня интактного контроля, но не уменьшает рост щелочно-лабильных сайтов, одноцепочечных разрывов ядерной ДНК, что является показателем возрастания генотоксического эффекта инвазии. Применение одного из антигельминтиков (альбендазол или мебендазол) в сочетании с ибупрофеном, фенкаролом и комплексом витаминов антиоксидантного характера не показала достоверных отличий уровней предимплантационной и постимплантационной гибели от контрольного уровня.

При терапии миграционного аскаридоза одним антигельминтиком (альбендазол, мебендазол, пирантел, пиперазин) в сочетании с ибупрофеном снижается цитотоксический эффект инвазии в клетках костного мозга и эмбрионов до показателей интактного контроля, но не изменяется генотоксический эффект инвазии, который характеризуется ростом количества одноцепочечных разрывов, щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК клеток костного мозга мышей и эмбрионов.

При лечении экспериментального миграционного аскаридоза мебендазолом, пирантелом или пиперазином снижается эмбриотоксический эффект инвазии по сравнению с данными чистой инвазии, но не устраняется полностью. Это характеризуется сохранением низкой массы эмбрионов, их малым краниокаудальным размером и высоким уровнем постимплантационной гибели зародышей по отношению к интактному контролю.

Комплексная терапия гельминтозов (описторхоз, трихинеллез, висцеральный токсокароз, миграционный аскаридоз), включающая в себя специфическую (празиквантель при описторхозе, альбендазол, мебендазол при нематодозах), патогенетическую (ибупрофен, фенкарол) и антиоксидантную (комплекс витаминов С, Е, β -каротин с селеном) является наиболее эффективным способом защиты генома хозяина и его эмбрионов, так как максимально приближает значения показателей генотоксичности, цитотоксичности к уровню интактного контроля. Комплексное лечение приводит к нормализации уровней средней массы зародышей, краниокаудального размера, их постимплантационной гибели до показателей интактного контроля.

Применение для дегельминтизации празиквантела при трематодозах (описторхоз), цестодозах (тениидозы, дифиллоботриоз, гименолепидоз), мебендазола, альбендазола при нематодозах (аскаридоз, трихоцефалез, висцеральный токоскароз, трихинеллез) у экспериментальных животных и человека на имагинальной или личиночной стадиях развития паразитов не может полностью защитить геном соматических клеток хозяина от генотоксического или цитотоксического воздействия секреторно-экскреторно-соматических продуктов паразитических червей, а также в 50-60 % случаев для устранения основных симптомов заболеваний требует повторного назначения антигельминтика. Это подтверждалось сохранением высоких уровней ППЯ ДНК до $4,43 \pm 2,14$ % или апоптоза соматических клеток костного мозга животных, крови, а также сохранением половозрелых паразитов в тонком кишечнике зараженных животных.

Комбинированное лечение гельминтозов антигельминтиком с нестероидным противовоспалительным препаратом (ибупрофеном, индометацин), хифенодином гидрохлоридом при висцеральном токсокарозе, пищеварительным ферментативным препаратом, содержащим липазу, амилазу при тениидозах, дифиллоботриозе и комплексом витаминов С, Е, β -каротин с Se приводит к полной элиминации клинических и лабораторных проявлений инвазий, не требует проведения повторных курсов лечения, а также эффективно увеличивает репарацию ядерной ДНК, редукцию апоптоза соматических клеток млекопитающих и человека с гельминтозами, так как приводит к снижению уровней ППЯ ДНК и апоптотических клеток до показателей интактного контроля.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреянов, О. Н. Возможность интраутеринного и лактогенного путей передачи трихинеллезной инвазии / О. Н. Андреянов // Теория и практика борьбы с паразитарными заболеваниями (Матер. докл. науч. конф., Выпуск 15). – М. – 2014. – С. 24–26.
2. Антонов, И. П. Цистицеркоз головного мозга (Клиника, диагностика, лечение). дис. ... докт. мед. наук : 03.00.19 / И. П. Антонов. – Мн, 1966. – 278 с.
3. Арапова, О. Н. Хронический описторхоз у беременных женщин: автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.02.11 / О. Н. Арапова. – Тюмень, 2010. – 18 с.
4. Арутюнян, Р. М. Применение метода ДНК-комет для оценки генотоксических эффектов в группах риска / Р. М. Арутюнян, Г. Г. Оганесян, А. К. Нерсисян // Вестник РАМН. – 2001. – № 10. – С.84–88.
5. Балдичева, Г. А. Динамика зараженности рыб *Diphyllbothrium latum* (L., 1758) в экосистемах крупных водоемов Вологодской области / Г. А. Балдичева, Н. М. Радченко // Сб. науч. тр. Проблемы цестодологии. – СПб. – Выпуск III. – 2005. – С. 63 – 69.
6. Барычева, Л. Ю. Клинические и иммунологические особенности врожденного токсоплазмоза / Л. Ю. Барычева // Российский вестник перинатологии. – 2004. – №2. – С.55–59.
7. Бекиш, В. Я. Взаимоотношения в системе паразит-хозяин у млекопитающих и человека при беременности / В. Я. Бекиш, В. В. Зорина [и др.] // Медицинские новости. – 2010. – № 11. – С. 16–20.
8. Бекиш, В. Я. Влияние антигенов из целых аскарид на хромосомный набор клеток культуры лимфоцитов крови человека / В. Я. Бекиш // Вопросы медицины и фармации: Тез.докл. 51-й науч. конф. студентов и молодых ученых ВГМУ. – Витебск, 1999. – С. 5–6.
9. Бекиш, В. Я. Влияние комбинированной терапии экспериментального гименолепидоза на состояние генома хозяина и свободнорадикальные процессы в семенниках / В. Я. Бекиш, В. В. Побяржин // Вестник фармации. – 2003. – № 4. – С. 65–74.
10. Бекиш, В. Я. Влияние комбинированной терапии экспериментального токсокароза на состояние генома хозяина и свободнорадикальные процессы в семенниках / В. Я. Бекиш, В. И.

Колмогоров, Л. Э. Бекиш // Вестник Фармации. – 2003. – № 3. – С. 45–51.

11. Бекиш, В. Я. Влияние миграционного аскаридоза на микроядерный тест / В. Я. Бекиш, А. А. Баньковский // Теоретич. и практ. аспекты медицины: Сб. науч. трудов. – Витебск, 1998. – С. 146–150.

12. Бекиш, В. Я. Воздействие метаболитов мигрирующих личинок аскарид на наследственный аппарат сперматогониев и сперматоцитов хозяина / В. Я. Бекиш, И. Ю. Малышев // “Фундаментал. науки и прогресс клин.медицины” : сб. матер. II конф. молодых ученых России. – М., 2001. – Ген 22. – С. 127.

13. Бекиш, В. Я. Генетические аспекты взаимоотношений в системе паразит-хозяин при аскаридозе / В. Я. Бекиш // Ткан.гельминтозы: диагностика, патогенез, клиника, лечение и эпидемиология: Тр. науч.-практич. конф. – Витебск, 2000. – С. 18–27.

14. Бекиш, В. Я. Генотоксическое и цитотоксическое воздействие миграции личинок свиной аскариды на клетки хозяина / В. Я. Бекиш, В. В. Зорина, О.-Я. Л. Бекиш // Российский паразитологический журнал. – 2008. – № 2 – С. 20-28.

15. Бекиш, В. Я. Генотоксическое и цитотоксическое воздействия метаболитов личинок токсокар на соматические и генеративные клетки хозяина / В. Я. Бекиш, А. Д. Дурнев // Вестник ВГМУ. – Том. 3. – № 4. – 2004. – С. 85–89.

16. Бекиш, В. Я. Генотоксические и цитотоксические эффекты в клетках хозяина при тениидозах / В. Я. Бекиш, В. В. Зорина // Российский паразитологический журнал. – 2015. – № 3. – С. 45–51.

17. Бекиш, В. Я. Защита наследственного аппарата клеток хозяина при трихинеллезе / В. Я. Бекиш // Вестник ВГМУ. – 2003. – Т. 2, № 4.– С. 77–84.

18. Бекиш, В. Я., Изменения в геноме хозяина при миграционном аскаридозе / В. Я. Бекиш, Д. А. Лопаухов // Актуал. вопросы совр. медицины и фармации : матер. 54 итоговой науч. конф. студентов и мол.ученых ВГМУ. – Витебск, 2002. – С. 28–31.

19. Бекиш, В. Я. Изменения микроядерного теста при миграционном аскаридозе / В. Я. Бекиш, А. А. Баньковский // Мат. науч. конф. “Вирусные инфекции на пороге XXI века: эпидемиология и профилактика”. – СПб, 1999. – С. 276–277.

20. Бекиш, В. Я. Мигрирующие личинки аскарид и их метаболиты как мутагены / В. Я. Бекиш // Сб. науч. тр. IV съезда врачей-инфекционистов РБ. – Витебск, 1997. – С. 21–22.
20. Бекиш, В. Я. Мигрирующие личинки аскарид и их метаболиты как мутагены / В. Я. Бекиш // Сб. науч. тр. IV съезда врачей-инфекционистов РБ. – Витебск, 1997. – С. 21–22.
21. Бекиш, В. Я. Микроядерный тест в клетках костного мозга и семенников мышей линии СВА при гельминтозах / В. Я. Бекиш, В. И Колмогоров, В. В. Побяржин // Вестник ВГМУ. – 2003. – Т. 2, № 2. – С. 67–72.
22. Бекиш, В. Я. Мутагенная активность антигенов из тканей аскарид / В.Я. Бекиш // Здравоохранение. – 1999. – № 6. – С. 17–19.
23. Бекиш, В. Я. Мутагенное воздействие мигрирующих личинок аскарид на геном хозяина / В. Я. Бекиш // Мат. конф. “Вирусные инфекции на пороге XXI века: эпидемиология и профилактика”. – СПб, 1999. – С. 276.
24. Бекиш, В. Я. Нарушения в геноме хозяина при экспериментальном трихинеллезе / В. Я. Бекиш // Эпидемиол., диагностика, лечение и профилактика паразит. забол. человека : тр. III Международ. науч.–практич. конф.; – Витебск, 2002. – С. 68–75.
25. Бекиш, В. Я. Нарушения в геноме хозяина при экспериментальном трихинеллезе и способы их коррекции / В. Я. Бекиш // Фунд. науки и достижения клин. медицины и фармации : тез. докл. 58 - ой науч. сессии ВГМУ. – Витебск, 2003. – С. 3–4.
26. Бекиш, В. Я. Нарушения в наследственном аппарате клеток сперматогенеза хозяина при экспериментальном трихинеллезе в зависимости от дозы введенного инвазионного материала при заражении / В. Я. Бекиш, А. Д. Дурнев // Современные проблемы общей, мед.иветерин. паразитологии : тр. IV Международ. науч. - практич. конф.; – Витебск, 2004. – С. 84–88.
27. Бекиш, В. Я. О некоторых способах защиты генома хозяина при экспериментальном трихинеллезе / В. Я. Бекиш // Новости мед.- биол. наук (News of biomedical sciences). – 2004. – № 2. – С. 115–121.
28. Бекиш, В. Я. Повреждения ДНК и апоптоз клеток хозяина при комбинированном лечении гименолепидоза / В.Я. Бекиш, В.В. Зорина // Российский паразитологический журнал. – 2015. – № 1. – С. 75–82.

29. Бекиш, В. Я. Повреждения ДНК клеток костного мозга и семенников мышей при экспериментальном трихинеллезе / В. Я. Бекиш, А. Д. Дурнев // Бюллетень эксп. биологии и медицины. – 2004. – Т. 138, № 9. – С. 320–323.
30. Бекиш, В. Я. Повреждения ДНК клеток костного мозга и семенников при экспериментальном гименолепидозе / В. Я. Бекиш // Вестник ВГМУ. – Том. 3, № 3. – 2004. – С. 22–26.
31. Бекиш, В. Я. Паразитарные инвазии и способы защиты генома хозяина при гельминтозах : дис. ... докт. мед. наук : 03.00.19, 03.00.15 / В. Я. Бекиш. – Витебск, 2005. – 316 л.
32. Бекиш, В. Я. Разработка комбинированного метода лечения трихоцефалеза человека / В. Я. Бекиш, В. В. Зорина // Вестник ВГМУ. – 2014. – Т. 13, № 3. – С. 78–83.
33. Бекиш В. Я., Семенов В. М., Бекиш Л. Э., Зорина В. В. Комбинированный метод диагностики трихинеллеза, описторхоза, трихоцефалеза / Инструкция по применению. Утв. МЗ РБ 6.03.2014 г., Рег. № 256-1213. – Мн.: 6 с.
34. Бекиш, В. Я. Состояние генома хозяина при гельминтозах / В. Я. Бекиш, О.-Я. Л. Бекиш. – Витебск, Изд-во ВГМУ. – 2004. – 218 с.
35. Бекиш, В. Я. Характеристика хромосомного аппарата соматических клеток больных кишечным аскаридозом до и после дегельминтизации / В. Я. Бекиш // Вопросы медицины и фармации (Тез. докл. 51-й науч. конф. студентов и мол. ученых ВГМУ). – Витебск. – 1999. – С. 6–7.
36. Бекиш, В. Я. Цитогенетический статус и особенности свободнорадикальных процессов хозяина при комбинированной терапии экспериментального гименолепидоза / В. Я. Бекиш, В. В. Побяржин, Л. Э. Бекиш // Матер. V съезда врачей-инфекционистов РБ. – Мн.: 2003. – С. 178–183.
37. Бекиш, В. Я. Эпидемиология цестодозов в Беларуси / В. Я. Бекиш, В. В. Зорина // “Ученые зап. УО “Вит. ордена “Знак Почета” гос. акад. вет. мед”. – 2015. – Т. 51, Вып. 1.– Ч. 1. – С. 170–174.
38. Бекиш, Л. Э. Особенности комбинированного лечения висцерального токсокароза / Л. Э. Бекиш, В. М. Семёнов, В. Я. Бекиш // Вестник ВГМУ. – Том. 3. – № 4. – 2004. – С. 80–84.

39. Бекиш, О.-Я. Л. Влияние трихинеллезной инвазии на обмен аскорбиновой кислоты / О.-Я. Л. Бекиш // Здоровоохранение Белоруссии. – 1972. – № 3. – С. 81–82.
40. Бекиш, О.-Я. Л. Влияние трихоцефалезного антигена на уровень цитогенетических нарушений клеток культуры лимфоцитов человека / О.-Я. Л. Бекиш, А. В. Степанов // “Гельминтозоозы – меры борьбы и профилактика” (Матер. докл. науч. конф.). – М.: 1994. – С. 17.
40. Бекиш, О.-Я. Л. Влияние трихоцефалезного антигена на уровень цитогенетических нарушений клеток культуры лимфоцитов человека / О.-Я. Л. Бекиш, А. В. Степанов // Матер. докл. науч. конф. “Гельминтозоозы – меры борьбы и профилактика”. – Москва, 1994. – С. 17.
41. Бекиш, О.-Я. Л. Витамины и гельминтозы / О.-Я. Л. Бекиш, А. Д. Бухавцова // Здоровоохранение Белоруссии. – 1964. – № 12. – С. 38–40.
42. Бекиш, О.-Я. Л. Влияние терапии на уровень генетических повреждений при трихинеллезной инвазии / О.-Я. Л. Бекиш, Л. В. Калинин // Пробл. инфекций и здоровья в совр. медицине. (Сб. науч. тр.). – Вып. 2. – Мн.: 1994. – С. 28–31.
43. Бекиш, О.-Я. Л. Действие трихинеллезной инвазии и метаболитов трихинелл на хромосомный аппарат соматических клеток человека / О.-Я. Л. Бекиш, Л. В. Калинин // Матер. докл. науч. конф. “Гельминтозоозы - меры борьбы и профилактика”. – М., 1994. – С. 14–16.
44. Бекиш, О.-Я. Л. Мутагенное влияние нематод / О.-Я. Л. Бекиш, Л. В. Калинин, А. В. Степанов // Тез. докл. VII Зоол. конф. “Пробл. изучения, сохранения и использования биологического разнообразия животного мира”. – Минск, 1994. – С. 194.
45. Бекиш, О.-Я. Л. Особенности эпидемиологии тениидозов / О.-Я. Л. Бекиш, В. Я. Бекиш, В. В. Побяржин // Вестник ВГМУ. – 2007. – Т. 6, № 4. – С. 128–133.
46. Бекиш О.-Я. Л., Семенов В. М., Бекиш В. Я., Проволоцкий Е. П. Способ комбинированного лечения трихинеллеза, включающий специфическую, патогенетическую и антиоксидантную терапию / Инструкция по применению. Утв. МЗ РБ 7.07.2004 г., Рег. № 31-0304. – Мн.: 9 с.

- 47.. Бекиш, О.-Я.Л. Способ комбинированного лечения трихинеллеза / О.-Я. Л. Бекиш, В. М. Семенов, В. Я. Бекиш // Вестник ВГМУ. – 2004. – Т. 3, № 3.– С. 15–18.
48. Бекиш, О.-Я. Л. Цестодозы человека. Монография / О.-Я. Л. Бекиш, В. Я. Бекиш. – Витебск: ВГМУ, 2008. – 177 с.
49. Бочков Н. П., Чеботарев А. Н. Наследственность человека и мутагены внешней среды. / АМН СССР. – М: Медицина, 1989. – 272 с.
50. Воздействие трихинеллёзной инвазии на геном хозяина при беременности / Е.С. Пашинская [и др.] // Вестн. ВГМУ. – 2009. – Т. 8, № 4. – С. 144–152.
51. Гигиенические критерии состояния окружающей среды 51: Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических веществ / Совместное издание Программы ООН по окружающей среде, МОТ и ВОЗ. – Женева: Изд-во «Медицина», 1989. – 212 с.
52. Гиновкер, А. Г. Хромосомные нарушения и иммунореактивность золотистых хомячков, инвазированных *Opisthorhis felinus* / А. Г. Гиновкер, Н. Н. Ильинских, И. И. Шкурко // Паразитология. – 1981. – № 1. – С. 62–68.
53. Гончаров, Д. Б. Токсоплазмоз: роль в инфекционной патологии человека и методы диагностики / Д. Б. Гончаров // Мед. паразитол. – 2005. – №4. – С. 52–58.
54. Дрынов, И. Д. Профилактика массовых инфекционных и паразитарных болезней человека медикаментозными средствами / И. Д. Дрынов, В. П. Сергиев, Н. А. Малышев. – М.: Принт, 1998. – 132 с.
55. Дурнев, А. Д. Мутагены: скрининг и фармакологическая профилактика воздействий / А.Д. Дурнев, С.Б. Середин. – М.: Медицина. – 1998. – 328 с.
56. Дурнев, А. Д. Применение метода щелочного гель-электрофореза изолированных клеток для оценки генотоксических свойств природных и синтетических соединений / А. Д. Дурнев [и др.]. // Метод. Рекомендации. Утв. РАМН и РАСН. – М., 2006. – 27 с.
57. Залесский, В. Н. Методы ранней диагностики апоптоза *in vitro* и *in vivo* для оценки хронических эффектов токсикантов / В. Н. Залесский, Н. В. Великая // Современные проблемы токсикологии. – 2006. – № 1. – С. 78–82.

58. Землянский, О. А. О сероэпидемиологии токсоплазмоза у беременных женщин и новорожденных / О. А. Землянский // Медицинская паразитология. – 2004. – №3. – С.40–42.
59. Зорина, В. В. Генотоксическое и цитотоксическое патогенное воздействие *Diphyllbothrium latum* (Linnaeus, 1758) на организм хозяина / В. В. Зорина, В. Я. Бекиш // Весці нацыянальнай акадэміі навук Беларусі (Серыя біялагічных навук). – 2015. – № 3. – С. 99–103.
60. Зорина, В. В. Генотоксические, цитотоксические и эмбриотоксические эффекты при сочетанной терапии миграционного аскаридоза во время беременности хозяина / В. В. Зорина, В. Я. Бекиш // Тр. VII Межд. научно-практ. конф. "Современные аспекты патогенеза, клиники, диагностики, лечения и профилактики протозоозов, гельминтозов и арахноэнтомозов человека, животных и растений" (23-24 сентября 2010 г., под ред. проф. В.Я. Бекиша). – Витебск: ВГМУ, 2010. – С. 151–162.
61. Зорина, В. В. Генотоксическое, цитотоксическое и эмбриотоксическое воздействие аскарид на организм хозяина: дис. ... канд. биол. наук : 03.02.11 / В. В. Зорина. – Витебск, 2011. – 159 л.
62. Зорина, В. В. Нарушение структуры ДНК и апоптоз клеток хозяина до и после комбинированного лечения инвазии тениидами / В. В. Зорина, В. Я. Бекиш // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2015. – № 4. – С. 88–91.
63. Зорина, В. В. Новые генетические аспекты патогенного воздействия *Diphyllbothrium latum* (Linnaeus, 1758) на организм хозяина / В. В. Зорина, В. Я. Бекиш // Достижения фундаментальной, клинической, медицины и фармации (Матер. 71-й научной сессии УО "ВГМУ", 27-28 января 2016 г., под ред. А.Т. Щастного). – 2016, Витебск. – С. 240–241.
64. Зорина, В.В. Повреждения ДНК и апоптоз клеток хозяина до и после комбинированного лечения инвазии широким лентецом / В.Я. Бекиш, В.В. Зорина // "Ученые зап. УО "Вит. ордена "Знак Почета" гос. акад. вет. мед". – 2015. – Т. 51, Вып. 1.– Ч. 1. – С. 205–208.
65. Зорина, В. В. Эмбриотоксическое, генотоксическое и цитотоксическое воздействие мигрирующих личинок свиной

- аскариды у хозяина / В. В. Зорина, О.-Я. Л. Бекиш, В. Я. Бекиш // Российский паразитологический журнал. – 2009. – № 2 – С. 75–81.
66. Изучить на основе ДНК технологий особенности патогенеза и разработать оценку эффективности лечения нематодозов человека : отчет о НИР (заключ.) / УО «Витебский государственный медицинский университет» ; рук. В. Я. Бекиш. – Витебск, 2010. – 86 с. – № ГР 200914.
67. Изучить на основе нанотехнологий особенности патогенеза и разработать эффективные способы лечения и диагностики трихинеллеза, описторхоза и трихоцефалеза человека : отчет о НИР (заключ.) / УО «Витебский государственный медицинский университет» ; рук. В. Я. Бекиш. – Витебск, 2013. – 108 с. – № ГР 20114734.
68. Изучить эпидемиологическую ситуацию по цестодозам в отдельных регионах Беларуси, предложить способы их профилактики и лечения : отчет о НИР (заключ.) / УО «Витебский государственный медицинский университет» ; рук. О.-Я. Л. Бекиш. – Витебск, 2008. – 129 с. – № ГР 20063570.
69. Ильинских, Н. Н. Популяционные исследования цитогенетической патологии в очагах описторхоза в условиях Обь-Иртышского бассейна / Н. Н. Ильинских // Комплекс. гигиен. исследования - в практ. здравоохранения. – Новокузнецк, 1981. – С. 481–484.
70. Ильинских, Н. Н. Проблема описторхоза на севере Тюменской области в связи с его влиянием на генетические структуры организма / Н. Н. Ильинских // Особенности патологии коренного и пришлого населения в условиях Крайнего Севера. – Красноярск, 1981. – Т. 2. – С. 198.
71. Калинин, Л. В. Микроядерный тест при экспериментальном трихинеллезе / Л. В. Калинин // Роль наследств. факторов в патогенезе забол. человека (Сб. науч. тр.). – Витебск, 1992. – С. 66–72.
72. Калинин, Л. В. Оценка мутагенной активности трихинеллезной инвазии с помощью цитогенетических тестов / Л. В. Калинин, О.-Я. Л. Бекиш // Актуал. пробл. медицинской и ветеринарной паразитологии : тез. докл. международной науч. конф.; – Витебск, 1993. – С. 11–12.

73. Клебановский, В. А. Дифиллоботриозы. – Гельминтозы человека / Под ред. Ф.Ф. Сопрунова. – М., Медицина. – 1985. – С.164–178.
74. Клиническая паразитология: Руководство / А. Я. Лысенко, М. Г. Владимирова, А. В. Кондрашин, Дж. Майори; Под общей ред. А.Я. Лысенко. – Женева, ВОЗ: 2002. – 676 с.
75. Клиническая паразитология. Под. ред. А.Я. Лысенко / Женева, ВОЗ. – 2002. – 734 с.
76. Козлов, С. С. Руководство и атлас по паразитарным болезням человека: под общ. ред. С. С. Козлова, Ю. В. Лобзина [Электронный ресурс]. – Электрон. дан. и прогр. (215 Мб). – СПб: 2005. – 1 электрон. опт. диск. (CD-ROM): зв., цв.
77. Колмогоров, В. И. Влияние комбинированной терапии висцерального токсокароза на показатели микроядерного теста в клетках костного мозга и семенников мышей линии СВА / В. И. Колмогоров, В. Я. Бекиш // Эпидемиол., диагностика, лечение и профилактика паразит. заболеваний человека (Тр. III Меж-дународ. науч.-практич. конф.). – Витебск, 2002. – С. 81–88.
78. Колмогоров, В. И. Влияние метаболитов личинок токсокар на показатели микроядерного теста в клетках семенников мышей линии СВА / В. И. Колмогоров, В. Я. Бекиш // Фунд. науки и достижения клин. медицины и фармации : тез. докл. 57 науч. сессии ВГМУ. – Витебск, 2002. – С. 6–7.
79. Колмогоров, В. И. Изменения показателей микроядерного теста в клетках костного мозга и семенников мышей линии СВА при сочетанной терапии висцерального токсокароза / В. И. Колмогоров, Л. Э. Бекиш, В. Я. Бекиш // Матер. V съезда врачей-инфекционистов РБ. – Мн.: 2003. – С. 222–226.
80. Колмогоров, В. И. Микроядерный тест в клетках семенников мышей линии СВА при экспериментальном токсокарозе / В. И. Колмогоров, В. Я. Бекиш // Эпидемиол., диагностика, лечение и профилактика паразит. заболеваний человека : тр. III Международ. науч. - практич. конф.; – Витебск, 2002. – С. 77–81.
81. Колмогоров, В. И. Микроядерный тест во время миграции личинок *Toxocara canis* у мышей линии СВА / В. И. Колмогоров // Тканевые гельминтозы: Тр. науч.-практ. конф. – Витебск, 2000. – С. 148–152.

82. Комбинированный метод лечения аскаридоза / Бекиш О.-Я. Л. [и др.] / Инструкция по применению. Утв. МЗ РБ 18.12.2009 г., Рег. № 120-1109. – Мн.: 8 с.
83. Комбинированный метод лечения описторхоза / Бекиш В. Я. [и др.] / Инструкция по применению. Утв. МЗ РБ 11.06.2013 г., Рег. № 045-0413. – Мн.: 4 с.
84. Комбинированный метод лечения трихинеллеза / Бекиш В. Я. [и др.] / Инструкция по применению. Утв. МЗ РБ 12.06.2013 г., Рег. № 068-0512. – Мн.: 6 с.
85. Комбинированный метод лечения трихоцефалеза / Бекиш В. Я. [и др.] / Инструкция по применению. Утв. МЗ РБ 6.03.2014 г., Рег. № 257-1213. – Мн.: 4 с.
86. Комбинированный способ лечения висцерального токсокароза / В. Я. Бекиш, В. М. Семенов, Л. Э. Бекиш / Инструкция по применению. Утв. МЗ РБ 24.06.2011 г., Рег. № 206-1210. – Мн.: 8 с.
87. Комбинированный способ лечения дифиллоботриоза / Бекиш О.-Я. Л. [и др.] / Инструкция по применению. Утв. МЗ РБ 13.11.2008 г., Рег. № 096-1008. – Мн.: 6 с.
88. Кравченко, Н. А. Генотоксическое воздействие власоглавов на соматические клетки хозяина в зависимости от срока заражения / Н. А. Кравченко, В. В. Зорина // Студенческая медицинская наука XXI века (Матер. XIV Международной научно-практич. конференции, 4-5 ноября 2015 г., под общей редакцией доц. С.А. Сушкова). – 2015, Витебск. – С. 253–255.
89. Кужель, Д. К. Влияние сенсibilизации белковым соматическим продуктом из марит *Opisthorchis felinus* на состояние генома соматических клеток хозяина во время беременности / Д. К. Кужель, В. В. Зорина // Актуальные вопросы современной медицины и фармации (Матер. 65-й итоговой научно-практич. Конф. студентов и молодых ученых), 24-25 апреля 2013 г., под общей редакцией доц. С.А. Сушкова). – 2013, Витебск. – С. 145–146.
90. Кужель, Д. К. Влияние сочетанной терапии экспериментального описторхоза на цитогенетические изменения плода и эмбриотоксический эффект инвазии у самок золотистых хомяков / Д. К. Кужель, В. В. Зорина, В. Я. Бекиш // Тр. IX Респ. научно-практ. конф. с межд. участием "Современные аспекты патогенеза, клиники, диагностики, лечения и профилактики паразитарных заболеваний"

(31 октября 2014 г., под ред. проф. В.Я. Бекиша). – Витебск: ВГМУ, 2014. – С. 101–111.

91. Кужель, Д.К. Генотоксическое и цитотоксическое воздействие мариит кошачьего сосальщика на соматические клетки хозяина / Д. К. Кужель, В. Я. Бекиш, В. В. Зорина // Вестник ВГМУ. – 2013. – Т. 12, № 3. – С. 106–115.

92. Кужель, Д. К. Генотоксическое, цитотоксическое и эмбриотоксическое воздействие кошачьего сосальщика на организм хозяина: дис. ... канд. биол. наук : 03.02.11 / Д. К. Кужель. – Витебск, 2014. – 208 л.

93. Кужель, Д. К. Динамика показателей щелочного гель-электрофореза изолированных клеток в зависимости от дозы заражения описторхисами у беременных самок золотистых хомяков и их эмбрионов / Д. К. Кужель, В. В. Зорина, В. Я. Бекиш // Достижения фундаментальной, клинической, медицины и фармации (Матер. 69-й научной сессии УО “ВГМУ”, 29-30 января 2014 г., под ред. В.П. Дейкало). – 2014, Витебск. – С. 197–198.

94. Кужель, Д. К. Изменения показателей щелочного гель электрофореза соматических клеток хозяина при экспериментальном описторхозе / Д. К. Кужель, В. В. Зорина, В. Я. Бекиш // Российский паразитологический журнал. – 2014. – № 3. – С. 52–58.

95. Кужель, Д. К. Экспериментальная модель описторхоза на золотистых хомяках / Д. К. Кужель // Исслед. молодых учёных: материалы X Междунар. науч. – практ. конф. «Аграрное производство и охрана природы», Витебск, 26 – 27 мая 2011г., под ред. Ятусевича А.И. – Витебск: ВГАВМ. – 2011. – С. 96 – 97.

96. Куропатенко, М. В. Токсокароз у беременных женщин / М. В. Куропатенко, Т.И. Шпилевая // Актуал. вопросы медицинской биологии и паразитологии (Матер. юбилейной научно-практ. конф., посвящ. 200-летию кафедры биологии имени академика Е.Н. Павловского). – С.-Петербург – 2009. – С. 61.

97. Лазюк, Г. И. Профилактика врожденных пороков развития медико-генетической службой / Г. И. Лазюк, О. В. Прибушения // Здоровоохранение. – 2002. – № 4. – С. 2–4.

98. Левицкая, А. Б. Современные методы определения апоптоза / А. Б. Левицкая, Д. Б. Никитюк // Вестник новых медицинских технологий. – 2005. – Т. XII, № 3-4 – С. 33–34.

99. Лычко, Н. Д. Исследование мутагенной активности хлорсила / Н. Д. Лычко, М. Н. Лебедева // Мед. паразитол. и паразитар. болезни. – 1988. – № 5. – С. 40–42.
100. Методические рекомендации по доклиническому изучению репродуктивной токсичности фармакологических средств / Б. И. Любимов [и др.] // Ведомости Фармакологического Комитета. – М.: – 1998. – №1. – 20 с.
101. Морфометрический и статистический анализ ядер гепатоцитов в норме и при экспериментальном описторхозе золотистых хомяков / Ю. А. Нестеренко [и др.] // Теория и практика борьбы с паразитарными заболеваниями (Матер. докл. науч. конф., Выпуск 13). – М. – 2012. – С. 280–283.
102. Недзьведь, М. К. Частота и морфологическая диагностика токсоплазмоза в аутопсийном материале / М. К. Недзьведь, Н. В. Корнев, Т. М. Недзьведь // Достижения и перспективы развития современной паразитологии (Тр. V Республ. науч. - практич. конф.). – 2006, Витебск. – Изд. ВГМУ. – С. 67–70.
103. Особенности комбинированного лечения трихинеллеза / Е. С. Пашинская [и др.] // Вестник ВГМУ. – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 100–108.
104. Паразитарные болезни человека. Под. ред. В.П. Сергиева, Ю.В. Лобзина, С.С. Козлова. – Сп.Б, Фолиант. – 2008. – 586 с.
105. Паразитарные болезни человека (протозоозы и гельминтозы): руководство для врачей / Под. общ. ред. В. П. Сергиева, Ю. В. Лобзина, С. С. Козлова. – СПб, Фолиант. – 2008. – 592 с.
106. Паразитологические методы лабораторной диагностики гельминтозов и протозоозов / Инструкция по применению 4.2.11-19.9 / Утв. МЗ РБ 3.05.2004 г., рег. № 49. – Мн.: 50 с.
107. Пашанина, Т. П. Распространение токсоплазмоза и методы его лабораторной диагностики / Т. П. Пашанина // Медицинская паразитология. – 2005. – №1. – С.51–54.
108. Пашинская, Е. С. Влияние белкового секреторно-экскреторно-соматического продукта личинок трихинелл на наследственный аппарат клеток самок крыс и их эмбрионов / Е. С. Пашинская // Ученые Записки УО «Витебская ордена “Знак Почета” гос. акад. ветеринар. медицины. – 2011. – Т. 47, Вып. 1. – С. 103–105.

109. Пашинская, Е. С. Влияние сенсibilизации белковым секреторно-экскреторно-соматическим продуктом личинок трихинелл на наследственный аппарат клеток самок крыс и их эмбрионов / Е. С. Пашинская // Актуальные вопросы современной медицины и фармации: матер. 62 научн.-практ. конференции студентов и молодых ученых, Витебск, 22–23 апр. 2010 г. / Витебск. гос. мед. ун-т; редкол.: С.А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2010. – С. 278–280.
110. Пашинская, Е. С. Воздействие белкового секреторно-экскреторно-соматического продукта личинок трихинелл на беременных самок крыс и их эмбрионы / Е. С. Пашинская, В. В. Побяржин. // Соврем. аспекты патогенеза, клиники, диагностики, лечения и профилактики протозоозов, гельминтозов и арахноэнтомозов человека, животных и растений: труды VII Междунар. научн.-практ. конф., под ред. В.Я. Бекиша.– Витебск, 2010. – С. 134–141.
111. Пашинская, Е. С. Генотоксический, цитотоксический, эмбриотоксический и фетотоксический эффекты у крыс после введения белкового секреторно-экскреторно-соматического продуктов личинок трихинелл / Е. С. Пашинская // Тезисы первого конгресса евро-азиатского об-ва по инфекционным болезням. – СПб.,– 2010. – Т 2, № 4. – С. 98.
112. Пашинская, Е. С. Генотоксический, цитотоксический и эмбриотоксический эффекты трихинеллеза при комбинированном лечении инвазии хозяина во время беременности / Е. С. Пашинская, В. Я. Бекиш // Вестник ВГМУ. – 2011. – Т. 10, № 2. – С. 103–112.
113. Пашинская, Е. С. Повреждение наследственного аппарата соматических и эмбриональных клеток хозяина при трихинеллезе во время беременности: дис. ... канд. биол. наук : 03.02.11 / Е. С. Пашинская. – Витебск, 2012. – 188 л.
114. Пашинская, Е. С. Применение щелочного гель-электрофореза изолированных клеток в эмбриональных тканях мышей / Е. С. Пашинская, В. В. Зорина, В. Я. Бекиш, В. В. Побяржин // Достижения фундаментальной, клинической, медицины и фармации : матер. 62-й научной сессии УО “ВГМУ”, Витебск, 22-23 марта 2007 г. / УО «Витебский гос. мед. университет» ; редкол.: В.П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2007. – С. 163–166.

115. Пашинская, Е. С. Эмбриотоксические и цитогенетические изменения у беременных мышевидных грызунов при трихинеллезе / Е. С. Пашинская, В. Я. Бекиш // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біялаг. навук. – 2012. – № 2. – С. 59–63.
116. Пашинская, Е. С. Эмбриотоксический эффект белкового секреторно-экскреторно-соматического продукта личинок трихинелл на различных стадиях развития крыс при сенсibilизации / Е. С. Пашинская, В. В. Побяржин // Достижения фундам., клин., медицины и фармации: матер. 65 науч. сессии “ВГМУ”, Витебск, 24–25 марта 2010 г. / Витебск. гос. мед. ун-т; редкол.: В.П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2010. – С. 500–502.
117. Побяржин, В. В. Взаимосвязь между дозой заражения инвазионным материалом и показателями микроядерного теста в клетках костного мозга мышей при гименолепидозе / В. В. Побяржин // Ткан.гельминтозы: диагностика, патогенез, клиника, лечение и эпидемиология : тр. науч.- практич. конф.; – Витебск, 2000. – С. 72–76.
118. Побяржин, В. В. Влияние сенсibilизации белковым антигеном из тканей *Hymenolepis nana* var. *muris* на показатели микроядерного теста у мышей линии СВА / В. В. Побяржин, В. Я. Бекиш // Фунд. науки и достижения клин. медицины и фармации: тез. докл. 57 науч. сессии ВГМУ; – Витебск, 2002. – С. 4–5.
119. Побяржин, В. В. Изменения в хромосомных наборах лимфоцитов крови доноров при культивировании с белковыми продуктами из карликовых цепней в различных концентрациях / В. В. Побяржин, В. Я. Бекиш // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2004. – № 3.– С. 74–77.
120. Побяржин, В. В. Изменения микроядерного теста при экспериментальном гименолепидозе / В. В. Побяржин, В. Я. Бекиш // Совр. паразитол.: пробл. и перспективы: тр. конф. посв. 65-летию каф.мед. биологии и общей генетики ВГМУ; ред кол.: О.-Я. Л. Бекиш [и др.]. – Витебск, 1999. – С. 99–104.
121. Побяржин, В. В. Дозозависимые повреждения генома хозяина при экспериментальном гименолепидозе / В. В. Побяржин, В. Я. Бекиш // Теория и практика борьбы с паразитарными заболеваниями: матер. докл. науч. конф., выпуск 5, Москва 26-28 мая 2004 г. /

Всероссийский институт гельминтологии им. К.И. Скрябина; редкол.: А.С. Бессонов [и др.]. – М., 2004. – С. 314–316.

122. Побяржин, В. В. Мутагенное воздействие белкового антигена из тканей половозрелых *Hymenolepis nana* var. *muris* на геном мышей линии СВА / В. В. Побяржин // Эпидемиол., диагностика, лечение и профилактика паразит.заболеваний человека: тр. III Международ. науч. - практич. конф.; – Витебск, 2002. – С. 93–98.

123. Побяржин, В. В. Нарушения в геноме хозяина при экспериментальном гименолепидозе в зависимости от дозы введенного инвазионного материала при заражении / В. В. Побяржин, В. Я. Бекиш // Вестник ВГМУ. – 2003. – Том. 2, № 4.– С. 84–89.

124. Применение нового способа терапии висцерального токсокароза / В. М. Семенов [и др.] // Тр. VIII Респ. научно-практ. конф. с межд. участием "Современные аспекты патогенеза, клиники, диагностики, лечения и профилактики паразитарных заболеваний" (27-28 сентября 2012 г., под ред. проф. В.Я. Бекиша). – Витебск: ВГМУ, 2012. – С. 170–173.

125. Профилактика цестодозов человека / О.-Я. Л. Бекиш [и др.] / Инструкция по применению. Утв. МЗ РБ 13.11.2008 г., Рег. № 099-1008. – Мн. – 11 с.

126. Разработка комбинированного метода лечения описторхоза человека / Д. К. Кужель [и др.] // Вестник ВГМУ. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 70–76.

127. Роль ассоциации марит *Opisthorchis felinus* с вирусом Эпштейна–Барр в цитогенетических последствиях описторхозной инвазии / Е.Н. Ильинских [и др.] // Паразитология. – 2000. – Т. 34, № 5. – С. 396–401.

128. Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических веществ // Гигиенические критерии состояния окружающей среды №51. – Женева: ВОЗ, 1989. – 212 с.

129. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р. У. Хабриев [и др.] // 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.

130. Семенов В.М., Бекиш В.Я., Бекиш Л.Э., Колмогоров В.И., Проволоцкий Е.П. Способ комбинированного лечения токсокароза,

включающего специфическую, патогенетическую и антиоксидантную терапию / Инструкция по применению. Утв. МЗ РБ 7.07.2004 г., Рег. № 30-0304. – Мн.: 8 с.

131. Семенов, В. М. Новые подходы к лечению висцерального токсокароза / В. М. Семенов, В. Я. Бекиш, Л. Э. Бекиш // Совр. пробл. общей, мед. и ветерин. паразитологии (Тр. IV Международ. науч. - практич. конф.). – Витебск, 2004. – С. 236–241.

132. Семёнов, В. М. Способ комбинированного лечения токсокароза / В. М. Семёнов, Л. Э. Бекиш, В. Я. Бекиш // Иммунопатол., аллергол., инфектол. – № 4. – 2004. – С. 34–38.

133. Сергиев, В. П. Физиология паразитизма и проблемы биологической безопасности / В. П. Сергиев, М. А. Пальцев. – М.: ОАО Издательство «Медицина», издательство «Шико». – 2008. – 144 с.

134. Сивкова, Т. Н. Кариопатическое действие соматического экстракта из личинок анизакид на клетки красного костного мозга мышей / Т. Н. Сивкова // Паразитарные болезни человека, животных и растений: тр. VI Международ. науч.– практич. конф.; – Витебск, 2008. – С. 220–222.

135. Сивкова, Т. Н. Кариопатическое действие продуктов личинок анизакид на соматические и половые клетки крыс при пероральном введении / Т. Н. Сивкова // Теория и практика борьбы с паразитарными заболеваниями (Матер. докл. науч. конф., Выпуск 10). – М. – 2009. – С. 366–370.

136. Сорочинская, У. Б. Применение метода ДНК-комет для оценки повреждений ДНК, вызванных различными агентами окружающей среды / У. Б. Сорочинская, В. М. Михайленко // Онкология. – 2008. – Т. 10. – № 3. – С. 303–309.

137. Способ комбинированного лечения аскаридоза человека антигельминтиком в сочетании с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с селеном / В. М. Семенов [и др.] // Вестник ВГМУ. – 2010. – Т. 9, № 2. – С. 148–154.

138. Способ лечения гименолепидоза, включающий специфическую, патогенетическую и антиоксидантную терапию / Бекиш О.-Я. Л. [и др.] / Инструкция по применению. Утв. МЗ РБ 29.11.2007 г., Рег. № 011-0307. – Мн.: 7 с.

139. Способ лечения тениидозов, включающий специфическую, патогенетическую и антиоксидантную терапию / Бекиш О.-Я. Л. [и др.] / Инструкция по применению. Утв. МЗ РБ 23.05.2008 г., Рег. № 103-1107. – Мн.: 6 с.
140. Степанов, А. В. Влияние терапии мебендазолом в сочетании с индометацином на цитогенетическую характеристику соматических клеток мышечной, инвазированных власоглавами / А. В. Степанов, О.-Я. Л. Бекиш // Фармация и фармакотерапия. (Сб. науч. тр.). – Витебск, 1994. – С. 88.
141. Степанов, А. В. Влияние трихоцефалезной инвазии и метаболитов паразита на кариотип соматических клеток хозяина : дис. ... канд. мед. наук: 03.00.19 / А. В. Степанов. – Витебск, 1995. – 110 л.
142. Степанов, А. В. Микроядерный тест при экспериментальном трихоцефалезе / А. В. Степанов // Роль наслед. факторов в патогенезе забол. человека: Сб. науч. тр. – Витебск, 1992. – С. 79–84.
143. Степанов, А. В. Характеристика хромосомного аппарата хозяина при трихоцефалезной инвазии / А. В. Степанов // XI конф. Украинского общества паразитологов. (Тез.докл.). – Киев, 1993. – С. 156.
144. Стибель, В. В. Изменения в наследственном аппарате свиней при аскаридозной инвазии / В. В. Стибель // Современные проблемы общей, медицинской и ветеринарной паразитологии: Тр. IV Международ. науч. - практич. конф; редкол.: О.-Я. Л. Бекиш [и др.]. – Витебск, 2004. – С. 73–75.
145. Тератология человека. Руководство для врачей / Кириллова И.А., Кравцова Г.И., Кручинский Г. В. [и др.]: под ред. Г. И. Лазюка. – 2-е изд., перер. и доп. – М.: Медицина, 1991. – С. 41–42.
146. Филиппов, Э. В. Использование метода «ДНК-комет» для детекции и оценки степени повреждений ДНК клеток организмов растений, животных и человека, вызванных факторами окружающей среды (обзор) / Э. В. Филиппов // Наука и образование. – 2014. – №2. – С. 72–78.
147. Хромова, С. Н. Влияние *Trichinella spiralis* на митоз у мышечной / С. Н. Хромова // Теория и практика борьбы с паразитарными заболеваниями (Мастер. докл. науч. конф., Выпуск 7). – М. – 2006. – С. 433–434.

148. Цитогенетические нарушения в лимфоцитах крови больных хроническим описторхозом, сопровождающимся персистенцией вируса Эпштейна-Барр / Е. Н. Ильинских [и др.] // Мед. паразитол. и паразитар. болезни. – 2001. – № 2. – С. 3–7.
149. Чистенко, Г. Н. Эпидемиологические аспекты паразитарных болезней в Беларуси. дис. ... докт. мед. наук : 03.00.19 / Г. Н. Чистенко. – Мн, 1995. – 295 с.
150. Эмбриотоксический эффект миграционного аскаридоза при специфическом лечении инвазии хозяина во время беременности / В. В. Зорина [и др.] // Вестник ВГМУ. – 2010. – Т. 9, № 2. – С. 142–147.
151. Ясинская, Л. И. Манифестация токсоплазмоза у детей / Л. И. Ясинская, И. Г. Германенко, Л. В. Зайцева // Достижения и перспективы развития современной паразитологии (Тр. V Республ. науч. - практич. конф.). – 2006, Витебск. – Изд. ВГМУ. – С. 71–75.
152. Aboul-Ela, E. I. Cytogenetic studies on *Nigella sativa* seeds extract and thymoquinone on mouse cells infected with schistosomiasis using karyotyping / E. I. Aboul-Ela // Mutat. Res. Gen. Toxic. and Envir. Mutagen. – 2002. – Vol. 516. – P. 11–17.
153. A cross-platform public domain PC image-analysis program for the comet assay / K. Końca [et al.] // Mutat. Res. Gen. Toxic. and Envir. Mutagen. – 2003. – Vol. 534. – P. 15–20.
154. Analysis of lacI mutations in Big Blue® transgenic mice subjected to parasite-induced inflammation / O. O. Motorna [et al.] // Mutat. Res. Fund. and Mol. Mech. of Mutagen. – 2001. – Vol. 484. – P. 69–76.
155. Apoptosis of cholangiocytes modulated by thioredoxin of carcinogenic liver fluke / P. Matchimakul [et al.] // Int. J. Biochem. Cell. Biol. – 2015. – Vol. 65. – P. 72–80. doi:10.1016/j.biocel.2015.05.014.
156. A randomised controlled trial of the effects of albendazole in pregnancy on maternal responses to mycobacterial antigens and infant responses to bacille Calmette-Guérin (BCG) immunisation / A. M. Elliott [et al.] // BMC Infectious Diseases. – 2005. – Vol. 5. – P. 115–123.
157. A Simple Technique for quantification of low levels of DNA damage in individual cells / N. Singh [et al.] // Exp. Cell Res. – 1988. – Vol. 175. – P.184–191.
158. Assessment of DNA Damage in Spleen, Bone Marrow, and Peripheral Blood From Malnourished Rats by Single Cell Gel

- Electrophoresis Assay / E. Cortes [et al.] // Teratogen., Carcinogen., and Mutagen. – 2001. – Vol. 21. – P. 231–247.
159. Asteinza, J. Hepatic cytochrome P450 (CYP) levels in the rat after albendazole treatment / J. Asteinza, J. J. Espinoza-Aquirre // Mutat. Res. Environ. and Mol. Mutagenes. – 1998. – Vol. 31, Suppl. 29. – P. 55.
160. Azqueta, A. 30 years of the Comet Assay: an overview with some new insights / A. Azqueta, S. Langie, A. Collins // Lausanne: Frontiers Media. (2015) doi: 10.3389/978-2-88919-649-4.
161. Bialek, R. Parasitic infections in pregnancy and congenital parasitoses. II. Helminth infections / R. Bialek, J. Knobloch // Z Geburtshilfe Neonatol. – 1999. – Vol. 203, № 3. – P. 128–133.
162. Biological agents. A review of human carcinogens / IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum. – 2012. – Vol. 100. – P. 1–441.
163. Blaszkowska, J. Disturbance of mouse pregnancy after injection of *Ascaris* homogenate during early organogenesis / J. Blaszkowska // Wiad. Parazytol. – 2000. – Vol. 46, № 3. – P. 369–378.
164. Blaszkowska, J. Effect of *Ascaris* chymotrypsin inhibitor on fetal development of mice / J. Blaszkowska // Wiad. Parazytol. – 2004. – Vol. 50, № 3. – P. 513–518.
165. Blaszkowska, J. Embryotoxic and teratogenic action of trypsin inhibitor of *Ascaris lumbricoides* in mice / J. Blaszkowska // Acta Parasitologica. – 1998. – Vol. 43, № 2. – P. 103–108.
166. Blaszkowska, J. The effect of *Ascaris suum* homogenate and its proteolysis inhibitors on chicken embryos / J. Blaszkowska // Helminthologia. – 1998. – Vol. 35, № 1. – P. 37–42.
167. Blaszkowska, J. The effect of *Ascaris* tegumental homogenate and α -chymotrypsin inhibitor isolated from the nematode on mouse pregnancy / Blaszkowska, J. // Helminthologia. – 1999. – Vol. 36, № 4. – P. 225–234.
168. Blaszkowska, J. Preliminary evaluation of maternotoxic effect of *Ascaris* α -chymotrypsin inhibitor in mice / J. Blaszkowska, R. Kadlubowski // Wiad. Parazytol. – 2001. – Vol. 47, № 4. – P. 705–710.
169. Blaszkowska, J. Preliminary evaluation of maternotoxic effect of *Ascaris* extract in mice / J. Blaszkowska // Wiad. Parazytol. – 2003. – Vol. 49, № 2. – P. 187–194.
170. Blaszkowska, J. Prenatal toxicity of *Ascaris* pepsin inhibitor in mice / J. Blaszkowska // Reprod. Toxicol. – 2008. – Vol. 25, № 2. – P. 263–270.

171. Bekish, O.-J. L. Nematode metabolites as mutagens of somatic and generative cells of host / O.-J. L. Bekish, V. J. Bekish // *Acta Parasitologica*. 2000. – Vol. 45, №3. – P. 244.
172. Bekish, V. J. Helminths metabolites mutagenesis influence on host somatic cells / V. J. Bekish, V. V. Pobjarzhin // 2nd International medical conference for students and young doctors (Abstract book). – Lublin (Poland). – 2000. – P. 14.
173. Bekish, V. J. Metabolites of migrative *Ascaris suum* larvae as mutagens of generative cells of host / V. J. Bekish // *Abstr. of 9th Intern. Congress on Infectious Diseases*. – Buenos-Aires (Argentina), 2000. – P. 272.
174. Bekish, V. J. Mutagenesis in experimental ascariasis / V. J. Bekish // *Abstr. of 8th Intern. Congress on Infectious Diseases*. – Boston (USA), 1998. – P. 58.
175. Bekish, V. J. The alterations in genetic apparatus of somatic and generative cells of the host caused by helminths metabolites / V. J. Bekish // *Wiad. Parazytol.* – 2001, – T. 47, Z. 4. – P. 891–896.
176. Bekish, V. J. The influence of larvae metabolites of *Ascaris suum* on genome of host in reinvasion / V. J. Bekish // *Acta Parasitologica*. – 2000. – Vol. 45, №3. – P. 243.
177. Bethony, J. Soil-transmitted helminths infections: ascariasis, trichuriasis, and hook-worm / J. Bethony [et al.] // *Lancet*. – 2006. – Vol. 368. – P. 1521–1532.
178. Bowie, W. R. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water / W. R. Bowie, A. S. King, D. H. Werker // *Lancet*. – 1997. – Vol. 350. – P. 173–177.
179. Carlier, Y. Congenital Chagas disease as an ecological model of interactions between *Trypanosoma cruzi* parasites, pregnant women, placenta and fetuses / Y. Carlier, C. Truysens // *Acta Tropica*. – 2015. – Vol. 151. – P. 103–115.
180. CD4⁺ and CD19⁺ splenocytes undergo apoptosis during an experimental murine infection with *Taenia crassiceps* / S. Lopez-Briones [et al.] // *Parasitol. Res.* – 2003. – Vol. 90, № 2. – P. 157–163.
181. Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates. WHO, 2015. – *Wkly. Epidemiol. Rec.* – P. 90, 33–44.
182. Characterization of malaria in pregnancy and identification of markers of placental infection with *Plasmodium falciparum* / M.F. Ofori

- [et al.] // Abstract of XIth International Congress of Parasitology (6-11 August, 2006, Glasgow, Scotland). – 2006. – P. 347.
183. Christian, P Antenatal anthelmintic treatment, birth weight, and infant survival in rural Nepal / P. Christian, S. K. Khatry, K. P. Jr. West // *Lancet*. – 2004. – Vol. 364. – P. 981–983.
184. Chromosome aberrations in leukocytes of filarial – infected indigenous inhabitants in the Philippines / M. Hirai [et al.] // *Jpn. J. Exp. Med.* – 1986. – Vol. 56, №6. – P.285 – 291.
185. Clycombe, K. J. Vitamin E and genome stability / K. J. Clycombe, S. N. Meydani // *Mutat. Res. Fund. and Mol. Mech. of Mutagen.* – 2001. – Vol. 475. – P. 37–45.
186. Collins, A. R. Carotenoids and genomic stability / A. R. Collins // *Mutat. Res. Fund. and Mol. Mech. of Mutagen.* – 2001. – Vol 475. – P. 21–28.
187. Comet assay and early apoptosis / P. Choucroun [et al.] // *Mutat. Res. Fund. and Mol. Mech. of Mutagen.* – 2001. – Vol. 478. – P. 89–96.
188. Comet Assay in Human Biomonitoring Studies: Reliability, Validation, and Applications / Collins A. [et al.] // *Mutat. Res. Envir. and Mol. Mutagen.* – 1997. – Vol. 30. – P. 139–146.
189. Comparative study of human neuronal and glial cell sensitivity for in vitro neurogenotoxicity testing / B. Laffon [et al.] // *Food Chem. Toxicol.* – 2017. – pii: S0278-6915(17)30051-0. doi: 0.1016/j.fct.2017.02.005.
190. Cotelle, S. Comet Assay in Genetic Ecotoxicology: A Review / S. Cotelle, J. F. Ferard // *Mutat. Res. Envir. and Mol. Mutagen.* – 1999. – Vol. 34. – P. 246–255.
191. Cumulus cell apoptosis as a predictor for oocyte quality in artificial reproduction technique / A. Alisch [et al.] // *Zentralbl. Gynakol.* – 2003. – Vol. 125, № 11. – P. 452–457.
192. Cytokine mRNA profiles in pigs exposed prenatally and postnatally to *Schistosoma japonicum* / M. E. Techau [et al.] // *Vet. Res.* – 2007, Vol. 38, № 1. – P. 25–36.
193. Detection by the comet assay of apoptosis induced in lymphoid cell lines after growth factor deprivation / M. Florent [et al.] // *Cell Biol. Toxicol.* – 1999. – Vol. 15. – P. 185–192.

194. Differential roles of inflammation and apoptosis in initiation of mid-gestational abortion in malaria-infected C57BL/6 and A/J mice / D. Sarr [et al.] // *Placenta*. – 2015. – Vol. 36(7). – P. 738–749.
195. Dubey, J. P. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum* / J. P. Dubey, G. Schares, L. M. Ortega- Mora // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2007. – Vol. 20. – P. 323–367.
196. Dubey, J. P. Neosporosis in animals—the last five years / J. P. Dubey, G. Schares // *Vet. Parasitol.* – 2011. – Vol. 180. – P 90–108.
197. Dubey, J. P. Toxoplasmosis in sheep, goats, pigs, cattle and man / J. P. Dubey // Boca Raton, Florida: CRC Press. – 1988. – P. 61–114.
197. Dubinsky, P. Congenital trichinellosis? / P. Dubinsky [et al.] // *Se report Parasite*. – 2001. – P. 180–182.
199. Early detection of *Toxoplasma gondii* infection by using a interferon gamma release assay: A review. / S. Mahmoudi [et al.] // *Exp. Parasitol.* – 2017. – Vol. 172. – P. 39–43.
200. Effect of administration of anti-helminthics for soil-transmitted helminths during pregnancy / R. A. Salam [et al.] // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2015, Jun 18; 6: – CD005547. doi.
201. Effects of maternal geohelminth infections on allergy in early childhood / P.J. Cooper [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2015. – Vol. 137, № 3. – P. 899–906.
202. El-Bayoumy, K. The protective role of selenium on damage and on cancer / K. El-Bayoumy // *Mutat. Res. Fund. and Mol. Mech. of Mutagen.* – 2001. – Vol. 475. – P. 123–139.
- 203
203. Enhanced liver cell mutations in trematode-infected Big Blue® transgenic mice / G. M. Genntile [et al.] // *Mutat. Res.* – 1998. – Vol. 400. – P. 355–362.
204. Enhanced non-disjunction frequency and decreased offspring production in a mouse colony treated orally with the antihelminthic drug thia-bendazole / F. Pacchierotti [et al.] // *Atti. Assoc. Genet. Ital.* – 1982. – Vol. 28. – P. 293–296.
205. Ertug, S. Seroprevalence and risk factors for toxoplasma infection among pregnant women in Aydin province, Turkey / S. Ertug [et al.] // *BMC Public Health*. – 2005. – Vol. 5, № 66. – P. 321–328.

206. Estimation of the mutagenic potential of the trematode *Opisthorchis felinus* in experimentally infected guinea pigs / E. N. Ilyinskikh [et al.] // *Parasitol. Res.* – 1998. – Vol. 84. – P. 570–572.
207. Evaluation of a tissue homogenization technique that isolates nuclei for the in vivo single cell gel electrophoresis (comet) assay: a collaborative study by five laboratories / Y. Miyamae [et al.] // *Mutat. Res. Gen. Toxic. and Envir. Mutagen.* – 1998. – Vol. 418. – P. 131–140.
208. Evaluation of chromosome breakage and DNA integrity in sperm: an investigation of remote semen collection conditions / K. E. Young [et al.] // *J. Androl.* – 2003. – Vol. 24, № 6. – P. 853–861.
209. Evaluation of DNA damage in different stages of mouse spermatogenesis after testicular X irradiation / E. Cordelli [et al.] // *Radiat. Res.* – 2003. – Vol. 160, № 4. – P. 443–451.
210. Experimental caprine neosporosis: the influence of gestational stage on the outcome of infection / W. J. Porto [et al.] // *Vet. Res.* – 2016. – Vol. 47:29. – DOI 10.1186/s13567-016-0312-6.
211. Exposure to acrylonitrile induced DNA strand breakage and sex chromosome aneuploidy in human spermatozoa / D. X. Xu [et al.] // *Mutat. Res.* – 2003. – Vol. 537, № 1. – P. 93–100.
212. Fallon, P. G. Type 1 type 2 cytokine producing mouse CD4+ and CD8+ cells in acute *Schistosoma mansoni* infection / P. G. Fallon, P. Smith, D. W. Dunne // *Eur. J. Immunol.* – 1998. – Vol. 28. – P. 1408–1416.
213. Fish Parasites: A Growing Concern During Pregnancy. / D. L. Villazanakretzer [et al.] // *Obstet. Gynecol. Surv.* – 2016. – Vol. 71(4). – P. 253–259.
214. Frequency of the congenital transmission of *Trypanosoma cruzi*: a systematic review and meta-analysis / E. J. Howard [et al.] // *Br. J. Obstet. Gynaecol.* – 2014. Vol. 121. – P. 22–33.
215. Geohelminth infections among pregnant women in Rural Western Kenya; a cross-sectional study / Anna M. van Eijk [et al.] // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – Vol. 3, № 1. – P. 370–382.
216. Gestation and breastfeeding in schistosomotic mothers differently modulate the immune response of adult offspring to postnatal *Schistosoma mansoni* infection / P. Alves Santos [et al.] // *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz., Rio de Janeiro.* – 2016. – Vol. 111(2). – P. 83–92.

217. Global numbers of infection and disease burden of soil transmitted helminth infections in 2010 / R. L. Pullan [et al.] // *Parasit. Vectors.* – 2014. – Vol. 7. – P. 37.
218. Gudi, R. Assessment of the in vivo aneuploidy/ micronucleus assay in mouse bone marrow cells with 16 chemicals / R. Gudi, J. Xu, A. Thilagar // *Mutat. Res. Envir. and Mol. Mutagen.* – 1992. – Vol. 20. – P. 106–116.
- 219.. Guyatt, H. L. Impact of malaria during pregnancy on low birth weight in sub-Saharan Africa / H. L. Guyatt, R. W. Snow // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2004. Vol. 17. – P. 760–769.
220. Halliwell, B. Vitamin C and genomic stability / B. Halliwell // *Mutat. Res. Fund. and Mol. Mech. of Mutagen.* – 2001. – Vol. 475. – Vol. 29–35.
221. Heddle, J. A. The DNA content of micronuclei induced in mouse bone marrow by y-irradiation: evidence that micronuclei arise from acentric chromosomal fragments / J. A. Heddle, A. V. Carrano // *Mutat. Res.* – 1977. – Vol. 44. – P. 63–69.
222. Helma, C. A public domain image-analysis program for the single-cell gel-electrophoresis (comet) assay / C. Helma, M. Uhl // *Mutat. Res. Gen. Toxic. and Envir. Mutagen.* – 2000. – Vol. 466. – P. 9–15.
223. Hellman, B. The concepts of tail moment and tail inertia in the single cell gel electrophoresis assay / B. Hellman, H. Vaghef, B. Bostrom // *Mutat. Res. DNA Repair.* – 1995. – Vol. 336. – P. 123–131.
224. Heterologous infection of pregnant mice induces low birth weight and modifies offspring susceptibility to malaria / A. Sharma [et al.] // *PLOS ONE* – 2016. –DOI:10.1371/journal.pone.0160120.
225. Human schistosomiasis / D. G. Colley [et al.] // *Lancet.* – 2014. – Vol. 383. P. 2253–64.
226. Increased prevalence of intestinal helminth infection during pregnancy in a Sub-Saharan African community / A. A. Adegnika [et al.] // *Wien. Klin. Wochenschr.* – 2007. – Vol. 119, № 23-24. – P. 712–716.
227. Increased translocation frequency of chromosomes 7, 11 and 14 in lymphocytes from patients with neurocysticercosis / L. A. Herrera [et al.] // *Mutagenesis.* – 2001. – Vol. 16, № 6. – P. 495–497.
228. Infection with *Brugia microfilariae* induced apoptosis of CD4+ T - lymphocytes: a mechanism of immune unresponsiveness in filariasis / J. S. Jenson // *Eur. J. Immunol.* – 2002. – Vol. 32. – P. 858–863.

229. Infection with the carcinogenic liver fluke *Opisthorchis viverrini* modifies intestinal and biliary microbiome / J. L. Plieskatt [et al.] // *Faseb J.* – 2013. – Vol. 27. – P. 4572–4584.
230. Interleukin 10-mediated T cell apoptosis during the T helper type 2 cytokine response in murine *Schistosoma mansoni* parasite infection / J. Estaquier [et al.] // *Eur. Cytokine Netw.* – 1997. – Vol. 8. – P. 153–160.
231. Intestinal helminth infections among reproductive age women in Vietnam: prevalence, co-infection and risk factors / P.H. Nguyen [et al.] // *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* – 2006. – Vol. 37, № 5. – P. 865–874.
232. Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Third WHO report on neglected tropical diseases, 2015. – P. 179–187.
233. In vitro isoflavone supplementation reduces hydrogen peroxide-induced DNA damage in sperm / J. Sierens [et al.] // *Teratogen., Carcinogen. and Mutagen.* – 2002. – Vol. 22. – P. 227–234.
234. Immune response impairment, genotoxicity and morphological transformation induced by *Taenia solium* metacestode / L. A. Herrera [et al.] // *Mutat. Res.* – 1994. – Vol. 305. – P. 223–228.
235. Immunoparasitological evaluation of *Trichinella spiralis* infection during human pregnancy: a small case series / G.G. Nuñez [et al.] // *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* – 2008. – Vol. 102, № 7. – P. 662–668.
236. Kadlubowski, R. The effect of *Ascaris lumbricoides* suis homogenate and its trypsin inhibitor in chick embryo / R. Kadlubowski, J. Blaszkowska // *Wiad. Parazytol.* – 2000. – Vol. 46, № 3. – P. 369–378.
237. Kadlubowski, R. Teratogenic action of alpha-chymotrypsin inhibitor of *Ascaris lumbricoides* in mice / *Med. Dosw. Mikrobiol.* – 1993. – Vol. 45, № 3. – P. 401–405.
238. Kassie, F. Single cell gel electrophoresis assay: a new technique for human biomonitoring studies / F. Kassie, W. Parxefall, S. Knasmuller // *Mutat. Res. Rev. in Mutat. Res.* – 2000. – Vol. 463. – P. 13–31.
239. Kristan, D. M. Effects of intestinal nematodes during lactation: consequences for host morphology, physiology and offspring mass / D. M. Kristan // *J. Exp. Biol.* – 2002. – Vol. 205, № 24. – P. 3955–3965.
240. Nitric oxide as a carcinogen: analysis by yeast functional assay of inactivating p53 mutations induced by nitric oxide / J.-I. Murata [et al.] //

- Mutat. Res. Fund. and Mol. Mech. of Mutagen. – 1997. – Vol. 379. – P. 211–218.
241. Lee Se-Hoon Effects of indomethacin and arachidonic acid on sister chromatid exchange induction by styrene and styrene-7,8-oxide / Lee Se-Hoon // Mutat. Res. Lett. – 1995. – Vol. 348, № 4. – P. 175–181.
242. Loa loa infection in pregnant women, Gabon / G. Mombo-Ngoma [et al.] // Emerging Infectious Diseases. – 2015. – Vol. 21, № 5. – P. 899–900.
243. Low fetal weight is directly caused by sequestration of parasites and indirectly by IL-17 and IL-10 imbalance in the placenta of pregnant mice with malaria / L. E. Fitri[et al.] // Korean J. Parasitol. – 2015. – Vol. 53, No. 2. – P. 189–196.
244. Lundy, S. K. Soluble egg antigen-stimulated T helper lymphocyte apoptosis and evidence for cell death mediated by FasL+ T and B cells during murine *Schistosoma mansoni* infection / S. K. Lundy, S. P. Lerman, D. L. Boros // Infection and Immunity. – Vol. 69, № 1. – 2001. – P. 271–280.
245. Management of biliary ascariasis in pregnancy / O. J. Shan [et al.] // World. J. Surg. – 2005. – Vol. 29, № 10. – P. 1294–1298.
246. Maria, L. *Ascaris lumbricoides* in neonate: Evidence of congenital transmission of intestinal nematodes / L. Maria, R. Luis // Rev. Inst. Med. Trop. San Paulo. – 1990. – 32, № 95. – P. 351–354.
247. Maternal infection is a risk factor for early childhood infection in filariasis / M. Bal [et al.] // PLOS Neglected Tropical Diseases. – 2015. – DOI:10.1371/journal.pntd.0003955.
248. Mkunde Mahande, A. Prevalence of parasitic infections and associations with pregnancy complications and outcomes in northern Tanzania: a registry-based cross-sectional study / A. Mkunde Mahande, M. Johnson Mahande // BMC Infectious Diseases. – 2016. – Vol. 16:78. – DOI 10.1186/s12879-016-1413-6.
249. Montero, R. Genotoxic activity of Praziquantel / R. Montero, P. Ostrowsky // Rev. in Mutat. Res. – 1997. – Vol. 387. – P. 123–139.
250. Montoya, J. G. Toxoplasmosis / J. G. Montoya, E. G. Liesenfeld // Lancet. – 2004. – Vol. 363. – P. 1965–1972.
251. Mudry, M. Mutagenesis quimico: Riesgo y beneficio en el consume de antiparasitarios / M. Mudry // Interciencia. – 1995. – Vol. 20, № 4. – P. 204–211.

252. Mudry, P. M. D. Mutagenicity bioassay of certain pharmacological drugs. I. Thiabendazole (TBZ) / P. M. D. Mudry, V. M. Labal, I. Larripa // *Mutat. Res.* – 1987. – Vol. 188. – P. 1–6.
253. Ndyomugyenyei, R. Malaria and hookworm infections in relation to haemoglobin and serum ferritin levels in pregnancy in Masindi district, western Uganda / R. Ndyomugyenyei [et al.] // *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* – 2008. – Vol. 102, № 2. – P. 130–136.
254. Oestrogenic compounds and oxidative stress (in human sperm and lymphocytes in the Comet assay) / D. Anderson [et al.] // *Mutat. Res.* – 2003. – Vol. 544, № 2-3. – P. 173–178.
255. Olive, P. L. Heterogeneity in radiation-induced DNA damage and repair in tumor and normal cells measured using the “Comet assay” / P. L. Olive, J. P. Banath, R. E. Durand // *Radiat. Res.* – 1990. – Vol. 122. – P. 86–94.
256. Opisthorchiasis and Opisthorchis-associated cholangiocarcinoma in Thailand and Laos / B. Sripa [et al.] // *Acta Trop.* – 2011. – Vol. 120(Suppl 1). – S158–S168.
257. Parasite dynamics in the peripheral blood and the placenta during pregnancy-associated malaria infection / M. Lauren [et al.] // *Malar. J.* – 2016. – Vol. 15:483. –DOI 10.1186/s12936-016-1541-x.
258. Payan-Carreira, R. Cysticercus tenuicollis vesicle in fetal structures: report of a case / R. Payan-Carreira, [et al.] // *Reprod. Domest. Anim.* – 2008. – Vol. 43, № 6. – P. 764–766.
259. Peterson, E. Parasite and pregnancy / E. Peterson // Abstract of XIth International Congress of Parasitology (6-11 August, 2006, Glasgow, Scotland). – 2006. – P. 345.
260. Peterson, E. Recent trends in research on congenital toxoplasmosis / E. Peterson, A. Pollak, I. Reiter-Owona // *Int. J. Parasitol.* – 2001. – Vol. 31. – P. 115–144.
261. Phenotype and serological characterization Plasmodium falciparum freshly isolated from infected human placentas / N. Tuikue Ndam [et al.] // Abstract of XIth International Congress of Parasitology (6-11 August, 2006, Glasgow, Scotland). – 2006. – P. 350.
262. Placental hypoxia and functional impairment in pregnancy-associated malaria / P. Boeuf [et al.] // Abstract of XIth International Congress of Parasitology (6-11 August, 2006, Glasgow, Scotland). – 2006. – P. 348.

263. *Plasmodium falciparum* and helminth coinfection in a semi urban population of pregnant women in Uganda / S.D. Hillier [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2008. – Vol. 198, № 6. – P. 920–927.
264. Possible association between *Taenia solium* cysticercosis and cancer: increased frequency of DNA damage in peripheral lymphocytes from neurocysticercosis patients / L. A. Herrera [et al.] // *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* – 2000. – Vol. 94, № 1. – P. 61–65.
265. Praziquantel treatment of brain and muscle porcine *Taenia solium* cysticercosis / A. Flisser [et al.] // *Parasitol. Res.* – 1990. – Vol. 76. – P. 640–642.
266. Prenatal allergic sensitization to helminth antigens in offspring of parasite-infected mothers / G. J. Weil [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1983. – Vol. 71, № 5. – P. 1124–1129.
267. Prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis. Report of a WHO Expert Committee. Geneva, World Health Organization, 2002, (WHO Technical Report Series, No. 912). – P. 2–3.
268. Pungpak, S. Tumour markers in the detection of opisthorchiasis-associated cholangiocarcinoma / S. Pungpak, P. S. Akai, B. M. Longenecker // *Hum. and Hyg.* – 1991. – Vol. 85, № 2. – P. 277–279.
269. Reference cells and ploidy in the comet assay / G. Brunborg [et al.] // *Front. Genet.* – 2015. – Vol. 6:61. doi: 10.3389/fgene.2015.00061.
270. Reproducibility of human sperm DNA measurements using the alkaline single cell gel electrophoresis assay / C. Hughes [et al.] // *Mutat. Res. Fund. and Mol. Mech. of Mutagen.* – 1997. – Vol. 374. – P. 261–268.
271. Risk and other factors associated with toxoplasmosis and toxocariasis in pregnant women from southern Brazil / P. C. Santos [et al.] // *J. Helminthol.* – 2016. – Vol. 14. – P. 1–5.
272. Risk factors for placental malaria and associated adverse pregnancy outcomes in Rufiji, Tanzania: a hospital based cross sectional study / R. Ndeserua [et al.] // *African Health Sciences.* – 2015. – Vol. 15, Issue 3. – P. 810–818.
273. Risk factors for toxoplasma infection in pregnancy: a case control study in France / L. Baril [et al.] // *Scand. J. Infect. Dis.* – 1999. – Vol. 31. – P. 305–309.
274. Santico, R. Effects of chronic parasitosis on women's health / R. Santico // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 1997. – Vol. 58, № 1. – P. 129–136.

275. Serrano-Garcia, L. Micronuclei and chromatid buds are the result of related genotoxic events / L. Serrano-Garcia, R. Montero-Montoya // *Mutat. Res. Envir. and Mol. Mutagen.* – 2001. – Vol. 38. – P. 38–45.
276. Shubber, E. K. Cytogenic studies on blood lymphocytes from patients with *Shistosoma mansoni* / E. K. Shubber, H. Salin // *Jap. J. Med. Sci. and Biol.* – 1987. – Vol. 40, № 4. – P. 137–145.
277. Tang, G. H. Detection of DNA damage induced by carbon disulfide in mice sperm with single-cell gel electrophoresis assay / G. H. Tang, D. F. Xuan // *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi.* – 2003. – Vol. 21, № 6. – P. 440–443.
278. Tenter, A. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to human / A. M. Tenter, A. R. Heckerroth, L. M. Weiss // *Int. J. Parasitology.* – 2000. – Vol. 30. – P. 1217–1258.
279. The comet assay in eight mouse organs: results with 24 compounds / S. Tsuda [et al.] // *Mutat. Res. Gen. Toxic. and Envir. Mutagen.* – 2000. – Vol. 465. – P. 11–26.
280. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives / Y. Sasaki [et al.] // *Mutat. Res. Gen. Toxic. and Envir. Mutagen.* – 2002. – Vol. 519. – P. 103–119.
281. The host-parasite relationship in pregnant cattle infected with *Neospora caninum* / E. A. Innes [et al.] // *Abstract of XIth International Congress of Parasitology (6-11 August, 2006, Glasgow, Scotland).* – 2006. – P. 346.
282. The impact of helminths on the response to immunization and on the incidence of infection and disease in childhood in Uganda: design of a randomized, double-blind, placebo-controlled, factorial trial of deworming interventions delivered in pregnancy and early childhood / A. M. Elliott [et al.] // *Clinical Trials.* – 2007. – Vol. 4. – P. 42–45.
283. The influence of pregnancy on intestinal parasite infection in Thai women / U. Herter [et al.] // *Acta Trop.* – 2007. – Vol. 101, № 3. – P. 200–206.
284. The mutagenic effect of praziquantel in *S. mansoni* - infected mice / F. M. A. Hamada [et al.] // *Arab. J. Lab.* – 1992. – Vol. 18. – P. 301–311.
285. The schistosome granulema: characterization of lymphocyte migration, activation and cytokine production / C. A. Rumbley [et al.] // *J. Immunol.* – 1998. – Vol. 161. – P. 4129–4137.

286. The tumorigenic liver fluke *Opisthorchis viverrini* – multiple pathways to cancer / B. Sripa [et al.] // *Trends Parasitol.* – 2012. – Vol. 28. – P. 395–407.
287. Thiabendazole-induced cytogenetic abnormalities in mouse oocytes / J. B. Mailhes [et al.] // *Mutat. Res. Envir. and Mol. Mutagen.* – 1997. – Vol. 29. – P. 367–371.
288. Tice, R. R. The single cell gel electrophoresis/comet assay: a potential tool for detecting radiation-induced DNA damage in humans / R. R. Tice, G. H. Strauss // *Stem Cells.* – Vol. 13, Suppl. 1. – 1995. – P. 207–214.
289. Transplacental transfer of schistosomal circulating antigens in cows / S. Gabriël [et al.] // *Parasite Immunology.* – 2002. – Vol. 24, № 11–12. – P. 521–525.
290. Two potential clinical applications of the alkaline single-cell gel electrophoresis assay: (1) human bladder washings and transitional cell carcinoma of the bladder; and (2) human sperm and male infertility / V. McKelvey-Martin [et al.] // *Mutat. Res. Fund. and Mol. Mech. of Mutagen.* – 1997. – Vol. 375. – P. 93–104.
291. Schistosome-induced pathology is exacerbated and Th2 polarization is enhanced during pregnancy / I. O. Farah [et al.] // *In Vivo.* – 2007. – Vol. 21, № 4. – P. 599–602.
292. Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Monograph on the evaluation of carcinogenesis risk to humans. – Lion: IARC, 1994. – Vol. 61. – 278 p.
293. Skin-stage schistosomula of *Schistosoma mansoni* produce an apoptosis-inducing factor that can cause apoptosis of T cells / L. Chen // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277, Issue 37. – P. 34329–34335.
294. Singh, N. P. Effects of age on DNA double-strand breaks and apoptosis in human sperm / N. P. Singh, C. H. Muller, R. E. Berger // *Fertility and sterility.* – 2003. – Vol. 80, № 6. – P. 1420–1430.
295. Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines for In Vitro and In Vivo Genetic Toxicology Testing / R. Tice [et al.] // *Mutat. Res. Envir. and Mol. Mutagen.* – 2000. – Vol. 35. – P. 206–221.
296. Simple detection of chemical mutagens by the alkaline single-cell gel electrophoresis (Comet) assay in multiple mouse organs (liver, lung, spleen, kidney, and bone marrow) / Y. Sasaki [et al.] // *Mutat. Res. Gen. Toxic. and Envir. Mutagen.* – 1997. – Vol. 391. – P. 215–231.

297. Seroepidemiological investigation of *Toxocara canis* in a female Greek pregnant population in the area of Athens / V. Papavasiliopoulos [et al.] // Clin. Exp. Obstet. Gynecol. – 2016. – Vol. 43(3). – P. 384–387.
298. Sripa, B. Infectious Diseases and Tropical Disease Pathology: SY16-3 Opisthorchiasis: from pathogenesis to control / B. Sripa // Pathology. – 2014. – Vol. 46(Suppl 2). – S28.
299. Successive ectopic pregnancies associated with tubal shistosomiasis in a french traveler / J. Laroche [et al.] // Pan African Medical Journal. – 2016. – Vol. 23:18. – doi:10.11604/pamj.2016.23.18.8845.
300. Swanson, J. A. Host influences on reproduction and establishment of mouse-adapted *Nippostrongylus brasiliensis* (Nematoda) / J. A. Swanson, L. W. Bone // J. Parasitol. – 1983. – Vol. 69, № 5. – P. 890–896.
301. Urban Chagas disease in children and women in primary care centres in Buenos Aires, Argentina / G. Moscatelli [et al.] // Mem. Inst. Oswaldo. Cruz., Rio de Janeiro, 2015. – Vol. 110(5). – P. 644–648.
302. Vitamin A and Zinc Supplementation among Pregnant Women to Prevent Placental Malaria: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial in Tanzania / A. M. Darling [et al.] // Am. J. Trop. Med. Hyg. – 2017. – pii: 16-0599. doi: 10.4269/ajtmh.16-0599.
303. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle – the billion dollar question / M. P. Reichel [et al.] // Int. J. Parasitol. – 2013. – Vol. 43. – P. 133–142.
304. Yamamoto, K. A comparison of diameters of micronuclei induced by clastogens and by spindle poisons / K. Yamamoto, Y. Kikuchi // Mutat. Res. – 1980. – Vol. 71. – P. 127–131.
305. Zhang, H. M. Epidemiological investigation on an outbreak of human trichinellosis in Jingping county of Yunnan province of China / H. M. Zhang, Y. K. Pang // Ed. Pest Control. – 1999. – P. 30–31.

Научное издание

Зорина Вера Владимировна, Бекиш Владислав Янович

**ГЕНОТОКСИЧЕСКИЕ, ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ И
ЭМБРИОТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ИНВАЗИЙ ГЕЛЬМИНТАМИ
Монография**

Подписано в печать _____ Формат 60×84, 1/16. Бумага типографская № 2. Гарнитура
Таймс. Усл. печ. листов _____. Тираж __ экз. Заказ № _____
Уч.-изд. л. _____

Издатель и полиграфическое исполнение УО «Витебский государственный
медицинский университет»
ЛП № 02330/453 от 30.12.2013 г.

пр. Фрунзе, 27. 210023, г. Витебск